

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

**TEKRARLAYAN GEBELİK KAYIPLARI OLAN VE YARDIMCI
ÜREME TEKNİKLERİ İLE TEKRARLAYAN İMPLANTASYON
BAŞARISIZLIKLARI OLAN HASTALARDA ENDOMETRİAL
RESEPTİVİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ:
BİR İMMÜNHİSTOKİMYASAL ÇALIŞMA**

UZMANLIK TEZİ
Dr. SULTAN CANAN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. AHMET ERDEM

ANKARA
ŞUBAT 2020

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

**TEKRARLAYAN GEBELİK KAYIPLARI OLAN VE YARDIMCI
ÜREME TEKNİKLERİ İLE TEKRARLAYAN İMPLANTASYON
BAŞARISIZLIKLARI OLAN HASTALARDA ENDOMETRİAL
RESEPTİVİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ:
BİR İMMÜNHİSTOKİMYASAL ÇALIŞMA**

UZMANLIK TEZİ
Dr. SULTAN CANAN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. AHMET ERDEM

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
01/2019-49 proje numarası ile desteklenmiştir

ANKARA
ŞUBAT 2020

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
TEŞEKKÜRLER	iii
KISALTMALAR	iv
TABLolar DİZİNİ	v
ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ.....	vi
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1 İnfertilite.....	3
2.1.1 Kadın İnfertilitesi.....	3
2.2 İmplantasyon Penceresi ve Endometrial Reseptivite	4
2.2.1 Apozisyon Aşaması	6
2.2.2 Adezyon Aşaması	7
2.2.3 İnvazyon Aşaması.....	8
2.3 Tekrarlayan İmplantasyon Başarısızlığı	9
2.3.1 Tekrarlayan İmplantasyon Başarısızlığı Nedenleri.....	10
2.4 Tekrarlayan Gebelik Kaybı	15
2.4.1. Tekrarlayan Gebelik Kaybı Risk Faktörleri.....	16
2.4.2 Tekrarlayan Gebelik Kaybı Nedenleri.....	16
2.5 Endometrial Reseptörler.....	21
2.5.1 HOXA-11.....	22
2.5.2 Beta1 İntegrin ($\beta 1$ İntegrin).....	22
2.5.3 FAK	23
2.5.4 Cluster of Differentiation 44 (CD44).....	23
2.5.5 ECM1.....	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1 Verilerin Toplanması ve Hasta Seçimi.....	25
3.2. Preperatların Morfolojik Değerlendirmesi	28
3.3 İmmünohistokimyasal Boyama	28
3.3.1 HOXA-11.....	28
3.3.2 Beta1 İntegrin	28

3.3.3 FAK	29
3.3.4 CD44.....	29
3.3.5 ECM1.....	29
3.3.6 İmmühistokimyasal Streptavidin- Biotin Boyama Yöntemi	30
3.4 İmmühistokimyasal Boyanmanın Değerlendirilmesi	31
3.5 İstatistiksel Analiz	32
4. BULGULAR.....	33
4.1 Demografik Özellikler.....	33
4.2 Endometrial Glandüler Boyanmalar.....	34
4.3 Endometrial Stromal Boyanmalar	37
5. TARTIŞMA	42
6. SONUÇ	49
7. KAYNAKLAR	51
8. ÖZET.....	56
9. SUMMARY	58
10. ETİK KURUL ONAYI.....	60
11. ÖZGEÇMİŞ	62

TEŞEKKÜRLER

Asistanlık hayatım boyunca her zaman yanımda olduğunu hissettiğim, bilgi ve birikimlerini benden esirgemeyen, hem tez danışmanım hem de iyi bir örnek olan değerli hocam sayın Prof. Dr. Ahmet Erdem'e, tezim ve asistanlığım boyunca yardımlarını esirgemeyen ve desteğini her zaman hissettiğim sayın Prof. Dr. Mehmet Erdem'e, hem bir abi samimiyeti hem de bir hoca profesyonelliğiyle asistanlığım boyunca yanımda olan sayın Doç. Dr. İsmail Güler'e, gerek bilgileriyle gerek tecrübeleriyle bana her zaman yol gösteren, beni yetiştiren tüm kıymetli hocalarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmamda büyük emekleri olan Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı başkanı sayın Prof. Dr. Özlem Erdem'e, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Öğr. Gör. Dr. M. Arda İnan'a ve Biyolog İlknur Gündüz'e teşekkür ederim.

Tüm asistanlığım boyunca birlikte çalışmaktan keyif aldığım, varlıklarıyla çok çalışmayı ufak bir detaydan daha fazlası olmayacak hale getiren tüm asistan arkadaşlarıma ve birer abla, abi olup varlıklarıyla güven veren tüm uzmanlarımıza teşekkür ederim.

Hayatımın en büyük şansını aileme sonsuz teşekkür ederim.

KISALTMALAR

CD	: Cluster of Differentiation
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
ECM1	: Ekstraselüler matrix protein-1
FAK	: Fokal Adezyon Kinaz
HCG	: Human Chorionic Gonadotropine
HOX	: Homeobox gen
HSG	: Histerosalpingografi
IHC	: İmmünhistokimya
IVF	: In Vitro Fertilizasyon
LH	: Luteinize Edici Hormon
RIF	: Tekrarlayan İmplantasyon Başarısızlığı (Recurrent Implantation Failure)
RPL	: Tekrarlayan Gebelik Kaybı (Recurrent Pregnancy Loss)
uNK	: Uterin Natural Killer
VKİ	: Vücut Kitle İndeksi
YÜT	: Yardımcı Üreme Teknikleri
β	: Beta

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Demografik Özellikler	33
Tablo 2. Tüm Gruplarda Endometrial Glandüler Boyanma	34
Tablo 3. Tekrarlayan İmplantasyon Başarısızlığı Olan Hastalarda FAK, CD44 ve ECM1'in Endometrial Glandüler Boyanması	36
Tablo 4. Tekrarlayan Gebelik Kaybı Olan Hastalarda FAK, CD44 ve ECM1'in Endometrial Glandüler Boyanması	37
Tablo 5. Tüm Gruplarda Endometrial Stromal Boyanma	38
Tablo 6. Tekrarlayan İmplantasyon Başarısızlığı Olan Hastalarda Endometrial Stromal $\beta 1$ İntegrin ve CD44 Boyanması	40
Tablo 7. Tekrarlayan Gebelik Kaybı Olan Hastalarda Endometrial Stromal HOXA11, $\beta 1$ İntegrin ve CD44 Boyanması	41
Tablo 8. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, RIF ve RPL gruplarında endometrial HOXA-11, $\beta 1$ İntegrin, FAK, CD44 ve ECM1'in boyanmalarındaki değişiklikler..	42

ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Şekil 1. İnfertilite ve Kadın İnfertilitesi Nedenleri	4
Şekil 2. İmplantasyonun aşamaları: Apozisyon, Adezyon, İnvazyon	6
Şekil 3. Hasta seçimi	27
Şekil 4. Teklenburg G. Ve arkadaşılarının RPL’de Süperfertilite Hipotezi	47
Resim 1. Endometrial FAK boyanması	35
Resim 2. Endometrial ECM1 boyanması.....	36
Resim 3. Endometrial $\beta 1$ İntegrin Boyanması	39
Resim 4. Endometrial CD44 Boyanması	40

1.GİRİŞ

İnsan endometriumu, menstruel siklusun sekretuar ve proliferatif fazlarında çeşitli değişikliklere uğrar ve “implantasyon penceresi” olarak bilinen kısa bir süreçte embriyo implantasyonu için uygun hale gelir [1]. Başarılı bir implantasyon olabilmesi için canlı bir blastokistin reseptif bir endometriuma uygun zamanda ulaşması gerekir [2].

İn vitro fertilizasyon (IVF) sonrası gebelik kayıplarının %50-75’inin implantasyon başarısızlığı nedeniyle olduğu tahmin edilmektedir [3]. Erken gebelik kayıplarının %50’si anormal embriyo karyotipi ile ilişkili iken kalan %50’si embriyo-endometrium arasındaki ilişki ve implantasyon ile ilişkilidir [4].

Tekrarlayan implantasyon başarısızlıklarının (RIF) ve tekrarlayan gebelik kayıplarının (RPL); kronik endometrit, endometrial polip gibi endometriumun patolojilerine bağlı olabileceği gösterilmiştir [5]. Organik endometrial patolojiler tedavi edildikten sonra bazı hasta gruplarında RIF ve RPL’nin persiste etmesi, implantasyondaki immünolojik mekanizmaların daha çok anlaşılması, implantasyon penceresi kavramlarının anlaşılmasıyla endometrial reseptivite çalışmaları ivme kazanmıştır. Endometrial reseptiviteye etkili olabilecek ve uterusun çeşitli hastalıklarında farklı oranda eksprese edildiği gösterilmiş birçok immünohistokimyasal marker bulunmaktadır [6].

HOXA-11, Homeobox genlerinden olup bu genin ekspresyonu endometriozis, hidrosalpinks, adenomyozis gibi birçok benign hastalıkta azalmakta ve bu hastalıklardaki implantasyon başarısızlığına neden olabilmektedir [7].

β_1 İntegrin hücre migrasyonunda, hücreler arası iletişimde ve doku tamirinde önemli rolü olduğu gösterilmiş, integrin ailesinden bir hücre yüzey proteindir. β_1

İntegrinin -hücre adezyonundaki kritik rolüne benzer şekilde- implantasyonda endometriumda ve erken gebelik döneminde desiduada artmış ekspresyonu olduğu gösterilmiştir [8].

İntegrinler, hücreler ile fokal adezyon molekülleri arasındaki bağlantıda kritik rol oynamaktadır. Fokal Adezyon Kinaz (FAK) ise fokal adezyon alanlarından eksprese edilen anahtar proteindir ve integrin aracılı sinyal iletiminde önemli rol oynamaktadır. FAK ekspresyonunun fizyolojik olarak desiduada daha fazla olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur [8].

CD44, glikolize hücre yüzey proteinlerinden biri olup hücre migrasyonu, T hücre aktivasyonu ve hücreler arası iletişimde rol oynamakla beraber hyaluronik asit için de reseptör görevi yapmaktadır. Endometrial CD44 ekspresyonunun, infertil popülasyonda endometriumda daha az olduğu gösterilmiştir [9].

Extraseüler Matrix Protein 1(ECM1), ilk olarak osteogenic stromal hücre membranından sekrete edildiği, sonrasında ise birçok dokuda ekspresyonunun olduğu ve birçok otoimmün hastalıkta (liken sklerozis vb.) rol oynadığı gösterilmiş, hücre membranı yerleşimli bir glikoproteindir. İnfertil hastalarda endometriumda ECM1 ekspresyonunda belirgin azalma olduğunu gösteren sınırlı sayıda çalışma mevcuttur [9].

Bu çalışmada tekrarlayan implantasyon başarısızlıkları olan ve tekrarlayan gebelik kayıpları olan hastalarda; endometriumun implantasyon için reseptif olduğu sekretuar dönemde HOXA-11, β_1 İntegrin, Fokal Adezyon Kinaz (FAK), CD44 ve Extraseüler Matrix Protein 1 (ECM1) ekspresyonundaki değişiklikler değerlendirildi. Amaç bu proteinlerde meydana gelen ekspresyon değişikliklerinin endometrial reseptivite üzerindeki etkilerini gözlemlemektir. Çalışma retrospektif vaka kontrol çalışması olarak tasarlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 İnfertilite

Fertilite, klinik gebeliğe sahip olabilme kapasitesi olarak tanımlanmaktadır [10]. İnfertilite ise; en az 12 ay süresince uygun zamanlanmış korunmasız cinsel ilişki varlığına veya terapötik donör inseminasyonuna rağmen gebeliğin sağlanamaması olarak tanımlanan bir hastalıktır. Erken tanı ve tedavi için, anamnez ve fizik muayeneye dayanarak, 35 yaş üstü kadınlarda 6 ay yeterli bir süredir [11].

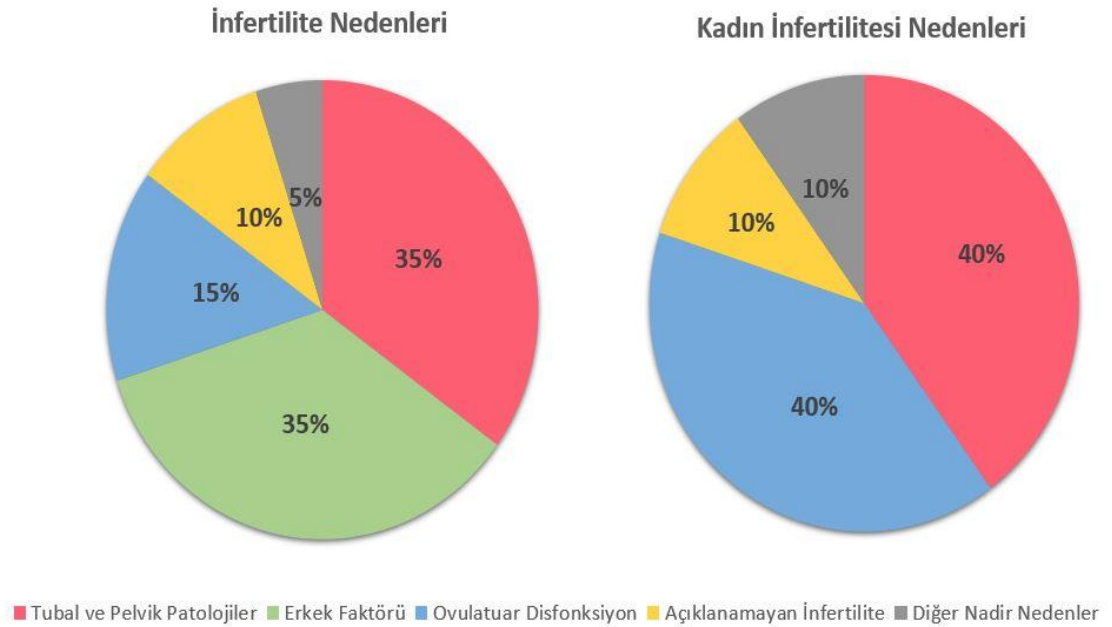
Tüm dünyada 186 milyondan fazla insan infertiliteden yakınmaktadır [12]. Üreme çağındaki çiftlerin %10-15'i infertilite tanısı almaktadır. İnfertilite nedenlerinin %35'ini tubal ve pelvik patolojilerin oluşturduğu, %35'inin erkek faktörü olduğu izlenmektedir. %15 hastada ovulatuvar disfonksiyon, %10 hastada açıklanamayan infertilite mevcuttur. Servikal ve uterin patolojiler, infertilitenin nadir nedenlerindendir [13].

Sterilitenin aksine infertilite geri dönüşü veya çözümü olmayan bir klinik durum değildir [14].

2.1.1 Kadın İnfertilitesi

İnfertilite prevalansı erkeklerde %10, kadınlarda %13 civarındadır. İnfertil kadınlarda tedavi için başvuru oranı %57 iken infertil erkeklerde bu oran %53 olarak saptanmıştır. Ayrıca kadın infertilitesi prevalansı yaşa bağlı olarak artış göstermektedir [14]. Bu nedenle 35 yaş üzerindeki kadınlarda 6 ay süre ile, uygun zamanlanmış cinsel ilişki varlığına rağmen gebeliğin sağlanamaması, infertilite tanısı için yeterlidir [11].

İnfertilitenin başlıca nedenleri tubal ve peritoneal faktörler (%20-40), ovulatuvar disfonksiyon (%10-20), erkek faktörü (%20-40) olarak sıralanabilir. Uterin patolojiler oldukça nadir infertilite nedeni olup geri kalan kısmı açıklanamayan infertilite oluşturmaktadır. Kadın infertilitesi nedenlerini ise tubal ve pelvik patolojiler (%40), ovulatuvar disfonksiyon (%40), diğer nadir patolojiler (%10) ve açıklanamayan infertilite (%10) olarak sıralamak mümkündür [13].



Şekil 1. İnfertilite ve Kadın İnfertilitesi Nedenleri

2.2 İmplantasyon Penceresi ve Endometrial Reseptivite

İmplantasyon embriyonun, uterin duvara tutunup önce maternal epitele, ardından plasentayı oluşturmak için maternal dolaşım sistemine penetre olduğu bir süreçtir [13].

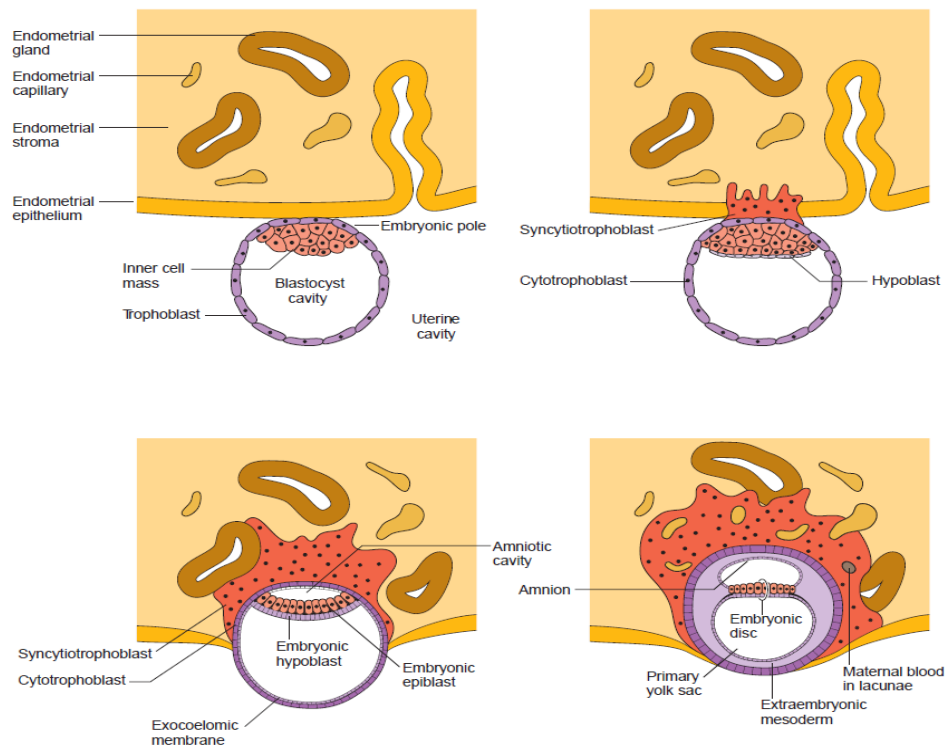
Başarılı bir implantasyon olmadan sağlıklı bir gebelik olması mümkün değildir [13]. Başarılı bir implantasyon olabilmesi için ise, canlı bir blastokistin reseptif bir endometriuma uygun zamanda ulaşması gerekir [2].

“İmplantasyon penceresi” olarak adlandırılan, endometriumun trofoblast ile etkileşimlerini en fazla destekleyebildiği zaman; 28 günlük bir menstruel periyodun 21-24. günleri arasında, kısa bir sürede gerçekleşmektedir [15].

Endometrium, menstruel siklus boyunca overyan hormonların ve parakrin sekresyonların etkisi ile dinamik bir süreç geçirir. Endokrin ve parakrin salgılar, farklı endometrial hücre gruplarının gen ekspresyonunu düzenler [16]. Proliferatif fazda baskın olan estrogen; stromal hücre ve gland yapısında proliferasyon ve spiral arterlerde uzamaya neden olur. Ovulasyon sonrası progesteronun yükselmesi ise sekretuar faz değişikliklerini ve endometriumun implantasyon penceresine hazırlanmasını sağlar [13].

Günümüzde implantasyon penceresini tanımak ve endometrial reseptiviteyi anlayabilmek adına genetik, ultrasonografik, biyokimyasal, immünolojik ve histolojik özellikleri araştıran birçok çalışma mevcuttur. İmplantasyon penceresinde endometriumda etkili birçok sitokin, büyüme faktörü, adezyon molekülleri, hormonlar, prostoglandinler gibi biyomarkerlar bulunmuştur [14, 17]. Bu biyokimyasal ve immünolojik markerların yanı sıra endometriumun reseptif dönemini tanımlamak adına ultrasonografik olarak endometriumun kalınlığı, karakteri, vaskülarizasyon özellikleri ve hacminden yola çıkarak reseptif dönemi belirlemeye yönelik birçok çalışma mevcuttur [18]. Yapılan elektron mikroskopik çalışmalarla endometriumda, integrinler ve sitokinlerle etkileşim halinde olan, implantasyon penceresinde luminal epitel hücrelerinde bol miktarda bulunan sitoplazmik çıkıntılar olan pinopodların varlığı gösterilmiştir [19, 20].

Fertilize ovum, ovulasyondan 3-4 gün, fertilizasyondan 2-3 gün sonra (genellikle menstruel siklusun 18.ya da 19. Günlerinde), morula aşamasındayken endometrial kaviteye ulaşır. İmplantasyon ise fertilizasyondan 6-7 gün sonra başlar ve 3 aşamada gerçekleşir: 1. Blastokistin endometriuma temas ettiği *apozisyon* dönemi 2. Blastokistin endometriuma yapıştığı *adezyon* dönemi ve 3. Blastokistin trofoblastlar ile endometrium içine yerleştiği *invazyon* dönemi [13, 14].



Şekil 2. İmplantasyonun aşamaları: Apozisyon, Adezyon, İnvazyon [13]

2.2.1 Apozisyon Aşaması

İmplantasyon, morula uterin kaviteye girdikten genellikle 2-4 gün sonra, blastokistin uterin duvara apozisyonu ile başlar. Bu temas için ön koşul olan zona pellusidanın kaybı, in vitro olarak blastokistin kontraksiyonu ve ekspansiyonuna

bağlı zona pellusidanın rüptürü ile olur. Ancak in vivo koşullarda, zona pellucida uterin sekresyonlarla da eriyebileceğinden, bu aşama daha az kritik öneme sahiptir. Zona pellucida kaybından sonra blastokist, implantasyon için zorunlu olan, iç hücre kitlesi (embriyo) ve trofoektoderme (plasenta) diferansiye olur [13].

Endometrium ve preadeziv embriyo çeşitli sitokinler salgılayarak implantasyon alanındaki vaskülariteyi yeniden düzenlerler ve implantasyonda ilk maternal adaptasyon, bu vasküler yeniden düzenlenme olarak kabul edilebilir [13].

2.2.2 Adezyon Aşaması

Apozisyon sonrasında implantasyonun devamı için gerekli olan aşama, endometrial proteinlere bağlanmayla ilişkili olan adezyon aşamasıdır. Endometrium implantasyon ile ilişkili en az 3 sitokin üretmektedir. Bunlar Koloni-Uyarıcı Faktör 1 (CSF-1), Lösemi-İnhibe edici Faktör (LIF) ve İnterlökin-1 (IL-1)' dir. Adezyon, ileri aşamalarda ise integrin, selektin ve troponinleri de içeren tüm adezyon moleküllerini içermektedir. Genelde sitokinler, büyüme faktörleri ve onların reseptörleri, implantasyon ile ilişkili tüm dokularda gösterilmiştir. Trofoblast adezyonu ve invazyonu fiziksel işlemine eşlik eden bu çeşitli maddeleri biyokimyasal araçlar olarak görmek, bu süreci anlamada yardımcıdır [13].

Adezyonda endometriumdaki moleküler değişiklikler kadar embriyodaki moleküler değişiklikler de önemli rol oynamaktadır. Hem endometrium hem de embriyodaki reaksiyonlara yönelik birçok çalışma bulunmaktadır. Ancak erken embriyonun in vivo koşullardaki reaksiyonlarını gözlemek ideal koşullarda sağlanamamıştır. Normal implantasyona reseptif endometriumun karakterizasyonu medikal incelemelere izin vermektedir [13].

2.2.3 İnvazyon Aşaması

Adezyonun ardından trofoblastlar implantasyon yerinde iki ayrı hücre tipine farklılaşır; sitotrofoblastlar ve sinsityotrofoblastlar. Ardından spiral arter duvarları yıkılarak sinüzoidal keseler oluşup endovasküler trofoblastlar ile kaplanır ve böylece maternal kan damarları invazyonu başlamış olur. Temel değişiklik sitotrofoblastlar ile maternal vasküler hücrelerin yer değiştirmesidir. Plasental invazyonun amacı, anne ile fetüs arasındaki yüksek kan akımı değişikliğine izin verecek uterin damarları yeniden şekillendirip, küçük ve yüksek basınçlı damarları, büyük ve düşük basınçlı damarlar olarak yeniden düzenlemektir [13].

Trofoblastların çeşitli hücreleri fagositoz yapma özelliği vardır, ancak in vivo koşullarda bu aktivitenin, ölü endometrial hücrelerin veya uterin duvardan dökülen hücrelerin uzaklaştırılması ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Trofoblastların invaziv yapısına rağmen embriyo tarafından sentezlenen enzimlerle maternal hücrelerin yıkıma uğraması, implantasyonda majör rol oynamaz. Erken embriyo çeşitli enzimler salgılar ve bu enzimler, epitelyal hücreleri bir arada tutan interselüler matriksi yıkmak için önemlidir [13].

Trofoblast, implantasyonun geç evrelerinde, in vitro olarak normal interselüler matriksin komponentleri olan kollajen, elastin ve glikoprotein içeriklerini sindirebilir. Hücreler trofoblasttan “temas inhibisyonu” işlemi ile uzaklaştırılır. Trofoblastlar daha sonra oluşan boşlukları doldurarak yayılır. Ekstraselüler matriks yıkıldığında, epitelyal hücreleri trofoblastlardan ayıran bu hareket ile, implante olan embriyonun epitelyal tabakaya doğru hareketi için bir boşluk oluşması sağlanmış olur [13].

Erken embriyogenez boyunca trofoblastik dokunun yüksek proliferatif fazı ve migrasyonu, maternal ve fetal dokular tarafından üretilen büyüme faktörleri ve sitokinler aracılığı ile düzenlenmektedir. Erken trofoblastların invazyonu, integrin ekspresyonuna ihtiyaç duyar. İntegrin ekspresyonundaki değişikliğin henüz bilinmeyen kontrol mekanizması, trofoblast invazyonunun anahtar düzenleyicisidir. Bunun yanında vasküler büyüme faktörleri, ekstraselüler matriks yapım ve yıkımına etkili faktörler, hücre sinyal yolları, adezyon molekülleri gibi birçok lokal etkili faktör implantasyonun hem invazyon hem de adezyon aşamasında karmaşık süreçlerde rol oynamaktadır [13].

Sağlıklı bir gebelik; implante olabilen bir blastokist ile implantasyona uygun bir endometrium arasındaki koordineli, senkronize bir iletişim ile mümkündür [21]. Bu karmaşık süreçte aksama olması durumu klinikte implantasyon başarısızlığı olarak karşımıza çıkmaktadır.

2.3 Tekrarlayan İmplantasyon Başarısızlığı

40 yaşın altında, en az 3 taze veya donmuş siklusta, en az 4 adet iyi kalite embriyo transferine rağmen klinik gebeliğin elde edilememesi tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olarak tanımlanmaktadır [22].

Klinik pratikte; ultrasonografide intrauterin gestasyonel kese varlığına dair kanıt olması implantasyonun başarılı olması olarak kabul edilir. İmplantasyon başarısızlığı ise ultrasonografide intrauterin keseye dair kanıt bulunamaması olarak tarif edilmiştir. İmplantasyon başarısızlığı migrasyon aşaması gibi çok erken dönemlerde başarısızlık olması sonucu olabileceği gibi, embriyo migrasyonunu başarılı bir şekilde tamamladıktan sonra intrauterin kesenin oluşması aşamasında meydana gelen bir hata nedeniyle de olabilir. Her iki durumda da ultrasonografide

intrauterin kese görülemez. Erken aşamada hata sonucunda idrarda veya kanda beta Human Chorionic Gonadotropine (β HCG) negatiftir. Ancak 2. koşulda (intrauterin kesenin oluşması aşamasında meydana gelen hata) β HCG pozitif olarak tespit edilir ve bu durum biyokimyasal gebelik olarak tanımlanır [22].

In vitro fertilizasyon (IVF) tedavisi alan kadınların %10'unda esas problem tekrarlayan implantasyon başarısızlığıdır [22]. Tekrarlayan implantasyon başarısızlığının nedenleri; gamet/embriyo faktörü, uterin/endometrial faktörler ve diğer nedenler olarak 3 ana başlıkta incelenebilir.

2.3.1 Tekrarlayan İmplantasyon Başarısızlığı Nedenleri

2.3.1.1 Gamet/Embriyo Faktörü

Tanımından da anlaşılacağı üzere, tekrarlayan implantasyon başarısızlığı, öncelikle uterin nedenlere bağlıdır. Ancak embriyo kalitesi subjektif veriler de içerdiğinden, gamet ve embriyo faktöründen de söz etmek mümkündür. Gamet/embriyo faktöründen söz ederken ön planda ele alınacak etkenler oosit kalitesi, sperm kalitesi ve parental kromozom anormallikleri olacaktır.

Oosit kalitesi, özellikle overyan stimulusyona zayıf yanıtı hastalarda, oosit sayısında azalma ve immatür embriyo sayısında artma dolayısıyla, tekrarlayan implantasyon başarısızlığının bir nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır [23]. Yaşa bağlı olarak oosit kalitesinde azalma ise sayısal azlığın yanı sıra, mitokondriyal DNA hasarı gibi kromozomal bozukluklar neticesinde anöploid embriyo gelişimi ile ilişkilidir [24].

İmplantasyonda kümüls hücresi de önemli rol oynamaktadır. Kümülüs oophorus, antral folikül evresinden fertilizasyona ve embriyo gelişimine kadar oosit ile ilişkili, granüloza hücrelerinin bir kütesidir [25, 26]. Kümülüs hücreleri

prostaglandinlerin ve anjiogenik faktörlerin kaynağı olarak işlev görür. Kümüllüs hücre gen ekspresyonundaki değişimler oosit kalitesi ve gebelik sonuçları ile korele olarak bulunmuştur [27, 28].

Düşük oosit kalitesi gibi, düşük sperm kalitesi de embriyo kalitesini bozan bir faktördür. Sigara kullanımı, genital enfeksiyonlar gibi birçok etken sperm kalitesinde bozulmaya yol açmaktadır [29]. Sperm DNA fragmantasyonunun artmış düşük oranları ve artmış IVF başarısızlığı ile korele olduğunu gösteren birçok çalışma mevcuttur. Ancak tekrarlayan implantasyon başarısızlığı ile doğrudan ilişkisini gösteren bir çalışma henüz mevcut değildir [22].

Dengeli translokasyon taşıyıcılarının, kromozal anomalili gamet ürettikleri ve bunun sonucunda infertilite ve düşük oranlarının arttığı bilinmektedir [22]. Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan çiftlerde kromozomal anomalilerin arttığını gösteren ve karyotiplemeyi, bu hasta grubunda rutin olarak öneren çalışmalar mevcuttur [30].

2.3.1.2 Uterin ve Endometrial Faktörler

Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı, ön planda uterin ve endometrial faktörlere bağlıdır. Uterin ve endometrial faktörler; konjenital uterin anomaliler ve uterin kavitede bozulmaya yol açan nedenler (submüköz myoma uteri, intramural myoma uteri, endometrial polip, intrauterin adezyon, adenomyozis vb.) olarak 2 ana başlıkta toplanabilir [22].

Konjenital uterin anomaliler; endometrial reseptiviteye etki ederek infertiliteye ve tekrarlayan gebelik kayıplarına yol açabilir [31]. Septat uterus, en sık görülen yapısal uterin anomalidir [13]. Septat uterusun birinci ve ikinci trimester kayıplarının yanı sıra infertiliteye de neden olduğu bilinmektedir [32]. Bikornuat

uterus da görece sık bir konjenital uterin anomali olmasına karşın infertilite nedeni olarak karşımıza çıkmamaktadır [33].

Müllerian kanal gelişimine Hox genlerinin etki ettiği tanımlanmıştır ve HoxA10 ve HoxA11 genlerinin endometriumun implantasyon için hazırlanmasında önemli rolü olduğu bilinmektedir [34-36].

Leiomyoma uteriler; uterin kontraktiliteyi artırma, sitokin profilinde dengesizliğe neden olma, anormal vaskülarizasyon ve kronik endometrial inflamasyon gibi birçok mekanizma ile implantasyonu etkiler [31]. Endometrial kavitede düzensizliğe yol açan submüköz ve intramural leiomyoma uteriler klinik gebelik ve implantasyon oranlarında azalmaya neden olmaktadır. Endometrial kavitede düzensizliğe yol açan submüköz ve intramural leiomyoma uterilerin rezeksiyonu sonrasında klinik gebelik oranlarında anlamlı ölçüde artış saptanmıştır [37-39]. Endometrial kavitede düzensizliğe yol açmayan intramural leiomyoma uteriler ise azalmış implantasyon oranına yol açmasına rağmen yapılan meta-analizlerde heterojenite ve metodolojik farklılıklar nedeniyle myomektominin faydası olduğuna dair kanıtlar sınırlıdır [39-41].

Adenomyozisin kadın fertilitasını etkilediğini düşündüren yayınlar olsa da tekrarlayan implantasyon başarısızlığındaki etkisi, tanıdaki zorluklar nedeniyle gerçekten az gibi görünmektedir [42-44]. Adenomyozisin endometriuma uzak yerleşimli leiomyoma uterilere kıyasla implantasyona daha çok etkisi olduğu tahmin edilmektedir. Ancak belirgin bir kapsülünün olmaması ve çıkarılması sırasında uterin duvar kaybının sık izlenen bir komplikasyon olması nedeniyle cerrahi yaklaşım daha zorlu bir süreç içerir [22].

Endometrial polipler embriyo implantasyonunu engelleyici özelliktedir [45]. Literatürde endometrial polip rezeksiyonu sonrası özellikle intrauterin inseminasyon

yapılan hastalarda klinik gebelik oranlarının arttığını gösteren birçok meta-analiz mevcuttur [46, 47].

Endometriumun basalis tabakasına ciddi travma, köprü formasyonu oluşumu nedeniyle sonrasında intrauterin adezyonlara (Asherman Sendromu) neden olabilir. Ciddi hastalıkta semptomları; amenore, menstruel düzensizlik, spontan abortus ve tekrarlayan gebelik kayıplarıdır [48]. Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan kadınların %8.5'inde intrauterin adezyon olduğu tespit edilmiştir [49]. İntrauterin adezyonlar histeroskopi ile tedavi edilebilir. Reprodüktif sonuçları ise preoperatif endometrial hasarın boyutuna bağlıdır [48].

Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan hastaların endometrial biyopsi sonuçlarında %14-30 oranında kronik endometrit saptanmıştır [50, 51]. Kronik endometrit endometriumdaki mikroorganizmalar ile immünsistem arasındaki dengenin mikroorganizmalar lehine değişmesi ile karakterize bir durumdur [52]. Genellikle asemptomatik seyreder. Semptomatik olduğunda anormal uterin kanama, pelvik ağrı ve lökore ile karşımıza çıkar [53]. Kronik endometrit tanısı genellikle histopatolojik olarak koyulur ve mikroskopide endometrial stromada plazma hücrelerinin varlığı kabul edilen tanı kriteridir [54]. Histeroskopi bulguları ise mikropolipler, stromal ödem ve fokal ya da diffüz hiperemiidir [52]. Histeroskopi, kronik endometrit tanısında, güçlü bir tanı aracıdır ve endometrial kültüre göre sensitivitesi daha yüksek olarak bulunmuştur [51, 55, 56].

IVF hastalarında yeterli endometrial kalınlık gebelik başarısı için önemlidir. Endometriumun fonksiyonel tabakası, proliferatif fazda estrogen etkisi ile Luteinize Edici Hormon (LH) pikine kadar büyümeye devam eder. Sekretuar fazda ise progesteron etkisi ile endometriumdaki sekretuar değişiklikler ve endometrial pattern değişiklikleri meydana gelir [13, 48]. Proliferatif fazda 2 boyutlu transvajinal

ultrasonografide endometrial kalınlığın arttığı izlenir. Ayrıca preovulatuvar dönemde trilaminer hipoekoik görünümde olan endometrium, postovulatuvar dönemde kompakt hiperekoik görünümde dir. Yardımcı üreme tekniklerinde ovulasyon tetiğinin çekildiği gün endometriumun trimaliner hipoekoik görünümde olması gebelik sonuçlarını olumlu yönde etkilemektedir [57]. Embriyo implantasyonu zamanında endometrial kalınlığın 7 mm'nin altında olması yardımcı üreme teknikleri için suboptimal kabul edilmektedir [58]. Bu durum endometrial reseptiviteyi etkileyerek tekrarlayan implantasyon başarısızlıklarının bir nedeni olarak karşımıza çıkabilir.

2.3.1.3 Diğer Nedenler

Hidrosalpinks, Fallopian tüpün çeşitli nedenlere bağlı olarak, distal tıkanıklık nedeniyle dilate olması durumudur. Distal tıkanıklığın temel nedeni, genellikle cinsel yolla bulaşan hastalıklar sonrasında gelişen, pelvik inflamatuvar hastalıktır. Gelişmekte olan ülkelerde daha sık görülmekle beraber, pelvik tüberkülozun da hidrosalpinksin nedenlerinden biri olduğu tespit edilmiştir. Tubal faktörler nedeniyle infertilite şikayeti olan çiftlerde %10-30 oranında, tubal faktörün en şiddetli manifestasyonu olan, hidrosalpinks saptanmıştır [59]. Hidrosalpinksin implantasyon üzerine olumsuz etkisinin mekanizmaları; doğrudan embriyotoksik bir etki olabileceği gibi biriken sıvının embriyoya zarar verdiği mekanik bir etkiye veya endometrial reseptivite üzerindeki olumsuz bir etkisine bağlı da olabilir [22]. Hidrosalpinksin tanısı transvajinal ultrasonografi veya histerosalpingografi (HSG) ile koyulur. Literatürde, hidrosalpinks olan hastalarda bilateral salpenjektomi sonrası, endometrial reseptivitede regülasyonun değişimine bağlı olarak, gebelik oranlarında belirgin artış olduğunu gösteren birçok yayın mevcuttur [60, 61].

Trombofilik koşulların tekrarlayan implantasyon ya da IVF başarısızlığında rolü olup olmadığı henüz kesinleşmiş durum değildir. Edinsel veya kalıtsal trombofilinin anlamlı bir şekilde tekrarlayan IVF başarısızlığına yol açtığını gösteren birçok çalışma mevcut olsa da geniş kapsamlı meta-analizlerde anlamlı bir ilişki bulunamamıştır [22].

İmmünolojik faktörler, tekrarlayan implantasyon başarısızlığında son zamanlarda oldukça ilgi çekmiştir. Endometrial reseptiviteyi etkileyerek implantasyon başarısızlığına yol açan faktörleri belirleyebilmek için moleküler düzeydeki araştırmalar her geçen gün artmaktadır. [62, 63] İmplantasyon aşamasında endometriumda lokal olarak meydana gelen birçok immünmodulasyon olduğu gösterilmiştir. Ancak implantasyondaki immün mekanizmalar, tam olarak aydınlatılmış bir konu değildir [13].

2.4 Tekrarlayan Gebelik Kaybı

Spontan abortus veya gebelik kaybı; 20. gestasyonel haftadan önce (son adet tarihine göre) veya fetal ağırlığın 500 gramın altında olduğu dönemde gebeliğin istemsiz sonlanması olarak tanımlanır [13].

Tekrarlayan gebelik kaybı, arka arkaya 3 veya daha fazla spontan gebelik kaybı olarak tanımlanır. Bunun yanında ard arda 2 spontan gebelik kaybindan sonra klinik araştırmaya başlanabilir. [48] Kararlar bireyselleştirilmeli ve anne yaşı, erken gebelik kayıp zamanı, kişinin ve ailenin tıbbi öyküsü gibi durumlar dikkate alınmalıdır [15].

İnsan koryonik gonadotropin (hCG) için hassas analizler kullanılarak yapılan çalışmalar, implantasyon sonrası gebelik kaybının %31 oranında olduğunu

göstermektedir. Tekrarlayan gebelik kaybı insidansı ise 300 gebelikte 1 olup kadınların %1'inden azında görülmektedir [48].

2.4.1. Tekrarlayan Gebelik Kaybı Risk Faktörleri

Çok sayıda çalışma, spontan abortus riskinin obstetrik öykü ile değiştiğini göstermektedir. Bir adet abortus öyküsü olan kadınlarda mevcut gebeliğin abortus ile sonuçlanma riski %19-24 civarındadır. Ard arda 4 gebelik kaybı sonrası risk %40'a kadar çıkmaktadır [13].

Roberts ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre, gebelikler arası süre azaldıkça spontan abortus oranları artmaktadır [64]. Buna bağlı olarak gebelikler arası sürenin, spontan abortuslar için risk faktörü olabileceğini söylemek mümkündür. Ancak spontan abortus oranları ile gebelikler arası sürenin anlamlı ilişkisi olmadığını gösteren yayınlar da mevcuttur [65].

Obtetrik öyküden bağımsız olarak, spontan gebelik kaybı riski yaş ile birlikte artmaktadır [15]. 30 yaşından önce risk %9-17 iken; 35 yaşında %20, 40 yaşında %40, 45 yaşında %80'e kadar ulaşır [66]. Bu durum azalan oosit kalitesi ile ilişkili olabilir.

2.4.2 Tekrarlayan Gebelik Kaybı Nedenleri

Tekrarlayan gebelik kaybı etyolojisi net olarak anlaşılamamıştır. Günümüze kadar yapılan çalışmalar doğrultusunda tekrarlayan gebelik kaybına yol açan faktörleri genetik, anatomik, immünolojik, endorinolojik, trombofililer ve enfeksiyonlar olarak gruplandırmak mümkündür [50].

2.4.2.1 Genetik Faktörler

Erken gebelik kayıplarında ortaya çıkan iki yaygın anormallik türü vardır: gelişimsel ve genetik anormallikler. Erken gebelik kayıplarının çoğu morfolojik olarak anormaldir. Embriyoskopi kullanımı ile embriyo veya uterustaki erken fetüs doğrudan görselleştirilerek abortusların % 86-91'inde bu anormalliklerin meydana geldiği gösterilmiştir. Bu fenotipik olarak anormal embriyoların bazıları, bazı fenotipik olarak normal embriyolarda olduğu gibi, genetik olarak anormal olacaktır [67]. Genetik anomaliler içerisinde embriyoda anöploidi olması spontan ve erken gebelik kayıplarına neden olabilecek bir durumdur. Ancak abortus materyalinde rutin olarak genetik analiz yapılması, prognoz ve tedaviyi değiştirmeyeceğinden önerilmemektedir [68].

Tekrarlayan gebelik kayıplarının yaklaşık %3 ila %5'i ebeveynlerdeki dengeli yapısal kromozomal düzenlenme nedeniyle gerçekleşmektedir [69]. Kromozomal düzenlenmeler çoğunlukla dengeli resiprokal translokasyonları içermekle birlikte Robertsonian translokasyonlar, kromozomal inversiyonlar ve mozaizm de görülebilmektedir [48]. Parenteral kromozom analizi de tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalara rutin olarak önerilmemekte olup bireysel risk analizi değerlendirmesi sonrası gerekli olması halinde önerilmektedir [68].

2.4.2.2 Anatomik Faktörler

Edinsel ya da kazanılmış serviks ve uterus anomalileri tekrarlayan gebelik kaybına neden olabilir. Literatürde tüm konjenital genital sistem anomalilerinin tekrarlayan gebelik kaybına yol açabileceği gösterilmiştir. Ancak tekrarlayan gebelik kayıpları ile en çok ilişkili olanlar uterin septum ve intrauterin diethylstilbestrol maruziyetine bağlı anomalilerdir. Endometrial polipler, intrauterin adezyonlar, uterin

fibroidler gibi kazanılmış uterin anomaliler de hem spontan abortusların hem de tekrarlayan gebelik kayıplarının nedeni olarak karşımıza çıkabilmektedir [48].

2.4.2.3 İmmünolojik Faktörler

İmmünolojik bağlamda, memeli gebeliği, annenin semi-allojenik bir embriyo taşıdığı eşsiz bir olgudur. Paternal antijenlerin maternal rejeksiyonu ve immün sistem disfonksiyonu, tekrarlayan gebelik kaybı etyolojisinde yoğun olarak araştırılan ancak tartışmalı kalmaya devam eden bir durumdur.

HLA komponentleri hücre-hücre iletişimde önemli rol oynamaktadır. HLA komponentlerinin maternal rejeksiyonda önemli olabileceğini gösteren birçok çalışma mevcut olsa da tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda rutin olarak taranması önerilmemektedir [68].

Anti-HLA antikorlar, Çölyak hastalığı serum belirteçleri, Anti-nükleer antikorlar ve Anti-sperm antikorlarının tekrarlayan gebelik kaybına yol açtığına dair birçok çalışma yapılmış, ardından yapılan meta-analizlerde bu antikorların varlığı ile tekrarlayan gebelik kaybı arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır [68].

Uterusta hücrel immün reaksiyonlarda, periferik kandan farklı olarak, uterin Natural Killer (uNK) hücreleri bulunmaktadır. uNK'lar CD56bright boyanma paternine sahip hücreler olup gebelikte özellikle ilk trimesterde plasentadaki lökositlerin %70'inden fazlasını oluşturmaktadır. Periferik kanda sitotoksik özelliğe sahip olan natural killer hücreler uterusta sitotoksiteyi düşürür, spiral arterlerin vasküler oluşumunu ve gelişimini destekler, çeşitli sitokinler salgılayarak trofoblast invazyonuna izin verir [70]. Tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda uNK hücrelerinin daha az bulunduğu dair çalışmalar mevcut olsa da tekrarlayan gebelik

kaybında hücresel immün mekanizmaları anlamak için daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır [48, 68, 70, 71].

2.4.2.4 Endokrinolojik Faktörler

Normal gebeliğin endokrinolojisi oldukça karmaşık bir durumdur. Spontan gebelik, menstruel siklustaki uygun zamanlı kritik hormonal değişimlere bağlıdır. Foliküler gelişim ve ovulasyon, blastokistin taşınması, implantasyon, endometriumun reseptivitesi, korpus luteumun fonksiyonları endokrinolojik etkenlerle doğrudan ya da dolaylı olarak ilişkilidir [13, 48].

Tekrarlayan gebelik kayıpları ile ilişkili olduğu öne sürülen endokrinolojik faktörler arasında luteal faz yetmezliği, LH aşırı salgılanması, tiroid bozuklukları sayılabilir. İnsülin direnci, polikistik over sendromu, diyabetes mellitus, obezite, azalmış over rezervi, hiperprolaktinemi gibi endokrinolojik bozukluklar da tekrarlayan gebelik kaybı için potansiyel oluşturan endokrinolojik faktörlerdendir.

Hipotiroidizm, hipertiroidizm ve tiroid peroksidaz otoantikorları (Anti-TPO) tekrarlayan gebelik kaybı etyoloji araştırmalarında birçok kere çalışılmıştır. Tiroid hormonları ve anti-TPO düzeylerinin, tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda anlamlı değişiklikler gösterdiğine dair birçok çalışma mevcut olsa da aralarındaki korelasyon net olarak gösterilememiştir. Tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda TSH ve anti-TPO düzeylerine rutin olarak bakılması, bozukluk olması durumunda nedene yönelik tedavi planlanması önerilmektedir [48, 68].

Luteal faz yetmezliği ve luteal faz defektleri implantasyon bölgesindeki endometrial gelişimi doğrudan etkileyerek tekrarlayan gebelik kaybına yol açabilir. Luteal faz defektleri progesteron salınımındaki yetersizliğe bağlı olabileceği gibi LH hipersekresyonuna bağlı da olabilir. Artmış LH düzeylerinin tekrarlayan gebelik

kaybı ile ilişkisinin altında yatan mekanizma tam olarak anlaşılmassa da, anormal LH salgılanması gelişmekte olan oosit (erken yaşlanma), endometrium (dissenkronize olgunlaşma) veya her ikisinde de doğrudan etkili olabilir [48].

Polikistik over sendromu, obezite, insülin direnci ve diyabetes mellitus hem oosit kalitesini etkileyerek hem de çok çeşitli endokrinolojik değişiklikler yaparak endometrial reseptivitede değişimlere neden olabilir. Bu durumların tekrarlayan gebelik kaybına yol açabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur ancak doğrudan ilişkileri tam olarak aydınlatılamamıştır [13, 48, 68].

2.4.2.5 Trombofililer

Trombofililerin tekrarlayan gebelik kaybına yol açabileceği uzun yıllardır ileri sürülen bir hipotezdir. Trombofilileri kalıtsal ve edinsel olarak iki grup altında incelemek mümkündür.

Günümüzde kalıtsal trombofililerin bilinenleri, Faktör V Leiden mutasyonu, protrombin gen mutasyonu, protein-C, protein-S ve antitrombin defektleri, metilen tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) mutasyonudur. Kalıtsal trombofililerin tekrarlayan gebelik kaybına yol açabileceğini gösteren güçlü çalışmalar mevcut olsa da kalıtsal trombofili için risk faktörü bulunmayan hastalarda rutin olarak taranması önerilmemektedir [68].

Edinsel trombofili ise antifosfolipid sendromu anlamına gelmektedir. Antifosfolipid antikorların varlığı, vasküler tromboz ve/veya obstetrik komplikasyonların varlığında antifosfolipid sendrom tanısı koyulur. 3 adet iyi tanımlanmış antifosfolipid antikor mevcuttur: Lupus antikoagülanı, anti-kardiyolipin antikorlar ve $\beta 2$ glikoprotein I antikorlar. Bu antikorlardan lupus antikoagülanı ve anti-kardiyolipin antikor pozitifliği ile tekrarlayan gebelik kaybı arasında güçlü bir

ilişki bulunmuştur. $\beta 2$ glikoprotein I antikorları ile tekrarlayan gebelik kaybı arasında da ilişki mevcuttur ancak bu ilişki zayıf niteliktedir. Bu nedenle antifosfolipid antikor taraması tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda önerilmektedir [68].

2.4.2.6 Enfeksiyonlar

Enfeksiyonların tekrarlayan abortuslarla ilişkisi oldukça tartışmalı konulardan biridir. Bakteriyel, viral, parazitik, zoonotik ve fungal organizmaların genital sistem enfeksiyonu teorik olarak gebelik kaybıyla ilişkilendirilmiştir; bununla birlikte, mikoplazma, üreaplazma, klamidya ve a-streptokoklar en sık çalışılan patojenlerdir. Bunun yanında Herpes Simplex Virus ve Sitomegalovirus plasentayı ve fetüsü direkt olarak enfekte edebilir [13, 48].

Spesifik enfeksiyon ajanlarının dışında, kronik endometrit tablosu da tekrarlayan gebelik kaybına yol açabilir. Bilimsel çalışmalar, kronik endometritin, infertiliteye yol açabildiği gibi preterm eylem ve tekrarlayan gebelik kaybı gibi kötü gebelik sonuçları ile de ilişkili olduğunu göstermiştir [72]. Tekrarlayan gebelik kaybı olan hastaların endometrial biyopsi örneklerinde %9,3-67,6 oranında kronik endometrit tespit edilmiştir. Çalışmalar arasındaki bu büyük farklılığın, nispeten az hasta sayısından ve uygulanan tanı ölçütlerindeki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir [73].

2.5 Endometrial Reseptörler

Başarılı bir implantasyon olabilmesi için sağlıklı bir embriyonun uygun zamanda reseptif bir endometriuma ulaşması gerekir. Endometrial reseptivitedeki yetersizlik, implantasyon başarısızlıklarının yaklaşık üçte ikisinden sorumlu iken, embriyonun kendisi bu başarısızlıkların sadece üçte birinden sorumludur.

Açıklanamayan implantasyon başarısızlığı olan kadınlarda; iyi hormonal cevap, iyi kalitede embriyolar, tatmin edici endometrial gelişme ve tanımlanabilir patoloji olmamasına rağmen, suboptimal endometrial reseptivite, embriyo implantasyonunun inhibe edilmesinde anahtar faktör olarak kabul edilir [74]. Endometriumun implantasyon penceresi denilen dönemde reseptivitesini anlamak için birçok molekül üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Adezyon molekülleri, sitokinler, büyüme faktörleri, lipidler de dahil olmak üzere çok sayıda moleküler mediatör tanımlanmıştır. Dolayısıyla, endometrial biyopsi örnekleri, insan implantasyonuna daha iyi bir bakış açısı elde etmek için, uterus reseptivitesi ile ilişkili molekülleri tanımlamada kullanılabilir [75].

2.5.1 HOXA-11

HoxA-11 abdominal B sınıfı homeobox genlerindendir. Bu genin transkripsiyon faktörü olarak bilinen fonksiyonunun yanı sıra yetişkinlerde fonksiyonel farklılaşmaya etki ettiği de gösterilmiştir. Menstruel siklusta, luteal fazda ekspresyonu artmaya başlar ve implantasyon penceresi döneminde en fazla düzeyde eksprese edilir [76]. Literatürde, HOXA-11'in endometriumdaki ekspresyonunun endometriozis, polikistik over sendromu gibi nedenlere bağlı infertilitede azalma göstererek endometrial reseptiviteye etki ettiğine dair çalışmalar bulunmaktadır. [7, 77].

2.5.2 Beta1 İntegrin ($\beta 1$ İntegrin)

Ekstraselüler matrix proteinleri aracılığıyla hücreler arası iletişim, hücre-hücre bağlanması, embriyonik gelişim, hücre göçü, büyüme kontrolü ve doku onarımı gibi çeşitli biyolojik süreçlerde izlenir. Bu etkileşimlerde integrin ailesi

büyük rol oynar. İntegrinler alfa ve beta subunitlerine sahip, transmembran reseptörler gibi çalışan, ekstraselüler matrix elemanlarıdır. Literatürde $\beta 1$ İntegrinin embriyo implantasyonunda fizyolojik olarak önemli rolü olduğuna dair birçok insan ve hayvan çalışması bulunmaktadır [8].

2.5.3 FAK

Fokal Adezyon Kinaz (FAK), ekstraselüler matrixe hücre bağlanma bölgelerinde, iskele görevi gören bir tirozin kinazdır. İntegrinlerin ekstraselüler matrikse bağlanmasını takiben veya Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörünün aracılık ettiği, büyüme faktörü uyarımının ardından aktive edilir[78-80]. FAK aktivitesinin implantasyon için vazgeçilmez olan invazyon ve neovaskülarizasyon aşamasında önemli rolü olduğu hayvan deneylerinde gösterilmiştir [81, 82]. İmplantasyon penceresi döneminde insanlarda uterin sıvıdan yapılan çalışmalarda ekspresyon artışı olduğuna dair yayınlar mevcuttur [8].

2.5.4 Cluster of Differentiation 44 (CD44)

CD44, transmembran glikoprotein ailesine ait, ekstraselüler matriksin temel bir elemanıdır. Hyaluronanın anahtar reseptörü olarak çalışır. Adezyon, sinyal iletimi ve migrasyon gibi hücre fonksiyonlarında birçok rol oynar. Bu transmembran glikoproteinin ekstraselüler komponenti, hyaluronik asitin yanı sıra ekstraselüler matriksin birçok komponenti ile ilişki halindedir [83, 84]. Endometriozis gibi patolojilerde CD44 ekspresyonunda değişiklikler olduğuna dair çalışmalar mevcuttur [85]. Fitzgerald ve arkadaşlarının infertil hastaların endometriumunda CD44 araştırdıkları çalışmasında, immünohistokimyasal olarak CD44 açısından anlamlı bir

fark bulunmamış olsa da bu çalışmada endometrial biyopsiler, implantasyon penceresi göz ardı edilerek alınmıştır [9].

2.5.5 ECM1

Extracellular Matrix Protein 1 (ECM1), endometriumda CD44'ün ilişki halinde olduğu proteinlerden biridir. Ekstraselüler matriksin birçok komponentinin implantasyonda rol oynadığına dair çalışmalar mevcut olsa da literatürde ECM1 ekspresyonuna dair sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Bu sınırlı sayıdaki çalışmalarda ise infertil hastalarda ECM1 ekspresyonunda azalma tespit edilmiştir [9, 86].

Bu tez çalışmasında, tekrarlayan implantasyon başarısızlığı ve tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalardan, implantasyon penceresi döneminde alınan endometrial biyopsi örneklerinde HOXA11, β 1 İntegrin, FAK, CD44 ve ECM1 çalışılması planlanmıştır. Bu moleküllerin endometrial reseptivite üzerindeki etkisine dair sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu tez çalışmasında endometrial reseptiviteye etkili faktörler ile ilgili literatüre katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu retrospektif vaka kontrol çalışmasının etik kurul raporu Gazi Üniversitesi Ölçme Değerlendirme Etik Alt Çalışma Grubu tarafınca çalışmanın gerçekleştirilmesinde etik sakınca olmadığı yönünde kararlaştırılmıştır.

3.1 Verilerin Toplanması ve Hasta Seçimi

Ocak 2019- Ocak 2020 tarihleri arasında, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine başvuran, 21 yaşından büyük, 40 yaşından küçük herhangi bir nedenle endometrial biyopsi yapılan tüm hastalar incelendi (n=349).

Tekrarlayan İmplantasyon Başarısızlığı tanı kriterleri; [22]

1. En az 3 taze veya donmuş siklusta, en az 4 adet iyi kalite embriyo transferine rağmen klinik gebelik elde edilemeyen hastalar
2. Embriyo transferleri sonrası ultrasonografik olarak gestasyonel kese görülmemesi

Tekrarlayan Gebelik Kaybı tanı kriterleri; [13]

1. 3 veya daha fazla, nedeni bilinmeyen, 20. Gestasyonel haftadan önce/500 gram altında gebelik kaybı olan hastalar

Kontrol grubu kriterleri;

1. Son 1 yıl içerisinde doğum yapmış olan, ovulatuvar siklusa sahip, infertilite dışında başka herhangi bir nedenle endometrial biyopsi yapılan ancak endometrial herhangi bir patoloji saptanmayan, fertil hastalar

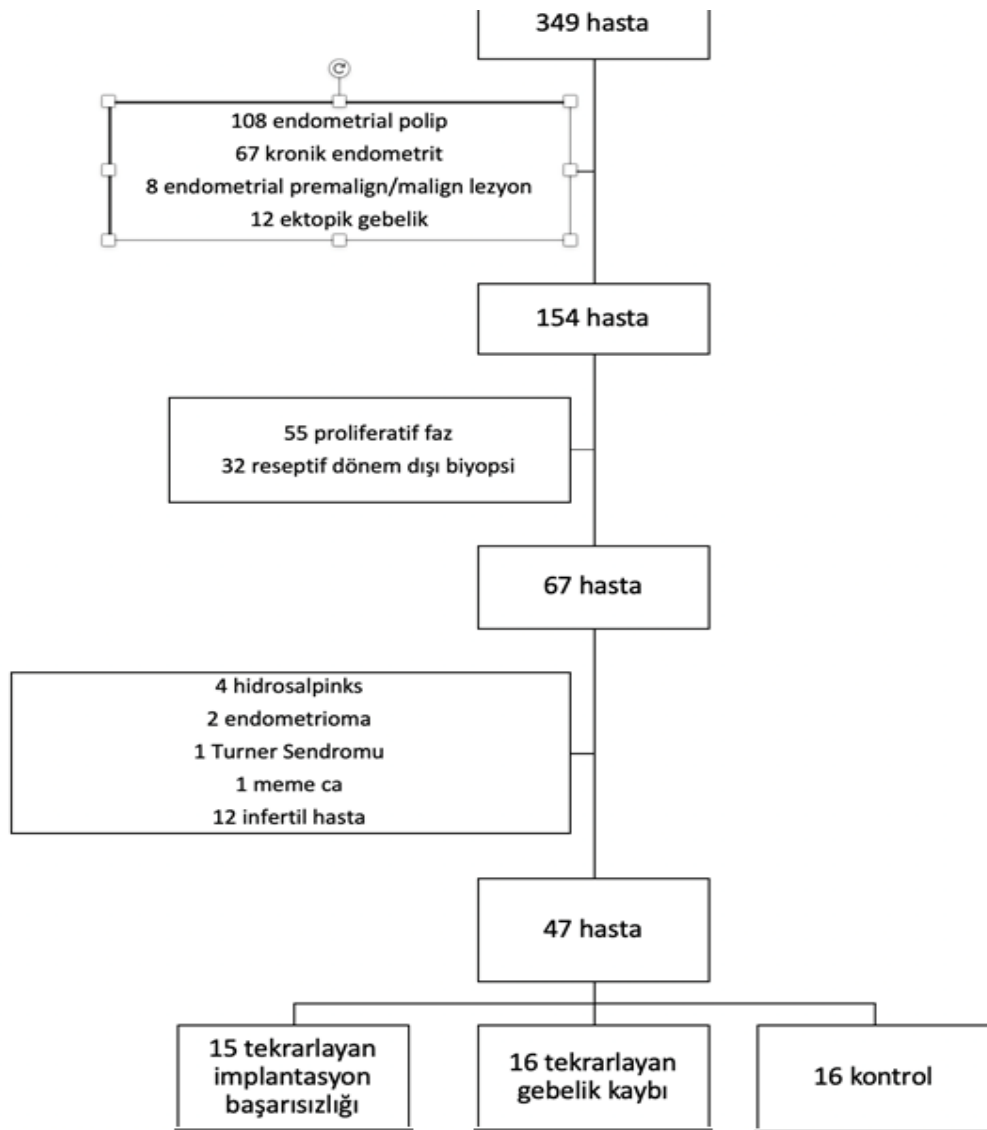
Dışlama kriterleri;

1. Endometrial biyopsi sonucunda herhangi bir endometrial patoloji bulunması (endometrial polip, kronik endometrit, submüköz leiomyoma vb.)
2. Alınan endometrial biyopsilerin menstruel siklusa göre endometriumun reseptif dönemi dışında alınmış olması (21.-24. Günler arası reseptif dönem olarak kabul edildi.)
3. Diyabetes Mellitus, herhangi bir jinekolojik malignite, estrogen ya da progesteron reseptörü ile ilişkili herhangi bir malignite gibi endometrial reseptiviteyi etkileyebilecek sistemik hastalığı olan hastalar
4. Endometrial biyopsi sonucu ektopik gebelik ile uyumlu olan hastalar
5. Turner Sendromu, endometriozis, hidrosalpinks gibi infertiliteye neden olabilecek başka bir patolojisi bulunan hastalar
6. Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı veya tekrarlayan gebelik kaybı tanı kriterlerini karşılamayan, infertilite şikayeti olan hastalar
- 7.

İncelenen 349 endometrial biyopsi örneğinin patolojik incelenmesi sonucunda 108 hastada endometrial polip, 67 hasta kronik endometrit, 8 hastada endometrial malign/premalign lezyon saptanması nedeniyle, bu hastalar çalışma dışı bırakıldı. 12 hastanın endometrial biyopsi sonucu ektopik gebelik ile uyumlu idi. 55 hasta, proliferatif fazda biyopsi yapıldığı için çalışmadan çıkarıldı. Kalan 95 hastanın anamnezleri incelendiğinde 22 hastaya siklusun sekretuar döneminde, 21. Gününden daha önce; 10 hastaya ise 24. Gününden daha sonra biyopsi yapıldığı saptandı ve bu hastalar da çalışma dışı bırakıldı. 1 hastada Turner Sendromu, 1 hastada meme kanseri, 2 hastada endometrioma, 4 hastada hidrosalpinks mevcuttu. 12 hasta ise

tekrarlayan implantasyon başarısızlığı veya tekrarlayan gebelik kaybı öyküsü olmadığı halde infertilite şikayeti ile başvurması nedeniyle çalışmadan çıkarıldı.

Kalan 47 hasta çalışmaya dahil edildi. Bunların 15 tanesi tekrarlayan implantasyon başarısızlığı tanı kriterlerini sağlayan, açıklanamayan infertilite şikayeti olan hastalardı. 16 hasta tekrarlayan gebelik kaybı tanısına sahipti. 16 hasta ise kontrol grubu kriterlerini sağlamaktaydı.



Şekil 3. Hasta seçimi

3.2. Preperatların Morfolojik Değerlendirmesi

Histopatolojik değerlendirme; %10'luk formaldehit içerisinde fikse edilmiş, rutin doku takibi uygulanarak parafine gömülmüş, Hematoksilen-Eozin (H&E) ile boyanmış arşiv preperatlarından yapılmıştır.

Kesitler ışık mikroskobunda (Olympus Bx50), x12,5, x40, x100, x200, x400 (objektif lens x 10x oküler lens) büyütmelemlerde incelenmiştir.

Hemotoksilen eozin kesitler yeniden gözden geçirilerek histolojik olarak endometrial günleme yapılmıştır.

3.3 İmmünohistokimyasal Boyama

Seçilen bloklardan HOXA-11, β 1 İntegrin, FAK, CD44, ECM1 ekspresyonunu göstermek için immünohistokimyasal aşağıda yazılı prosedürler uygulanmıştır.

3.3.1 HOXA-11

HOXA-11 antikorunun ekspresyonunu belirlemek için streptavidin-biotin üçlü indirekt immünperoksidaz yöntemi kullanılarak boyama yapılmıştır. HOXA-11 ekspresyonu için Anti-HOXA-11 (Tavşan poliklonal, 1:500 dilüsyon, ThermoFisher Scientific, US) antikor kullanılmıştır. Antikor pozitif kontrolü olarak endometrium dokusu kullanılmıştır.

3.3.2 Beta1 İntegrin

Beta1 İntegrin antikorunun ekspresyonunu belirlemek için streptavidin-biotin üçlü indirekt immünperoksidaz yöntemi kullanılarak boyama yapılmıştır. β 1 İntegrin ekspresyonu için Anti-İntegrin β 1 (Tavşan monoklonal, klon: EPR16895, 1:1000

dilüsyon, Abcam, ABD) antikoru kullanılmıştır. Antikor pozitif kontrolü olarak kolon dokusu kullanılmıştır.

3.3.3 FAK

FAK antikorunun ekspresyonunu belirlemek için streptavidin-biotin üçlü indirekt immünperoksidaz yöntemi kullanılarak boyama yapılmıştır. FAK ekspresyonu için Anti-FAK (Tavşan monoklonal, klon: EP695Y, 1:250 dilüsyon, Abcam, ABD) antikoru kullanılmıştır. Antikor pozitif kontrolü olarak dalak ve hepatoselüler karsinom dokusu kullanılmıştır.

3.3.4 CD44

CD44 antikorunun ekspresyonunu belirlemek için streptavidin-biotin üçlü indirekt immünperoksidaz yöntemi kullanılarak boyama yapılmıştır. CD44 ekspresyonu için Anti-CD44 (Tavşan monoklonal, klon: EPR1013Y, 1:100 dilüsyon, Abcam, ABD) antikoru kullanılmıştır. Antikor pozitif kontrolü olarak tonsilla dokusu kullanılmıştır.

3.3.5 ECM1

ECM1 antikorlarının ekspresyonunu belirlemek için streptavidin-biotin üçlü indirekt immünperoksidaz yöntemi kullanılarak boyama yapılmıştır. ECM1 ekspresyonu için Anti- Extracellular Matrix Protein-1 (Tavşan monoklonal, klon: EPR6701, 1:250 dilüsyon, Abcam, ABD) antikoru kullanılmıştır. Antikor pozitif kontrolü olarak böbrek dokusu kullanılmıştır.

3.3.6 İmmünohistokimyasal Streptavidin- Biotin Boyama Yöntemi

Parafin bloklardan hazırlanan 4 mikrometre kalınlığında kesitler pozitif şarjlı lamlara alınmıştır. Kesitler deparafinizasyondan sonra Ventana-XT kapalı boyama cihazında boyanmıştır. Biotinlenmiş bağlayıcı (sekonder) antikör olarak, ticari olarak kullanıma hazır kitler şeklinde, streptavidin-biotin kompleksi ve kromojen olarak ultraView Universal Alkaline Phosphatase Red (Fast-Red) kullanılmıştır.

İmmünohistokimyasal Streptavidin-Biotin Boyama Yöntemi:

1. Pozitif şarjlı lamalar 80 santigrat derecelik etüvde yarım saat bekletilmiştir.
2. 20 dakika ksilende bekletilip berraklaştırılmıştır.
3. %100'lük alkolden geçirilerek dokuların hidrasyonu sağlanmıştır.
4. Alkollerden arındırmak (dehidratasyon) için distile su ile çalkalanmıştır.
5. Lamlar mikrodalgaya dayanıklı özel şalelerde pH 6,0 sitrat buffer solüsyonu içerisine sıralanarak mikrodalga fırında, yüksek derecede (85°C 10 dk. ve 70°C 10 dk.) inkübe edilmiştir. Daha sonra oda ısısında 30 dk. soğumaya bırakılmıştır.
6. Kesitler 3 kez distile sudan geçirilmiştir.
7. Dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak için, kesitlere %3'lük hidrojen peroksit çözeltisi damlatılıp 5 dakika bekletilmiştir.
8. Distile suda 2dk.'lık sürelerle iki kere yıkanmışlardır.
9. pH 7,2-7,4 PBS (0,01 M Phosphate Buffer Saline) içinde 2dk. bekletilmiştir.

10. Lam üzerinde doku harici alanlar kurulandıktan sonra primer antikor damlatılarak kapalı bir kap içerisinde nemini kaybetmeyecek şekilde bir gece bekletilmiştir.
11. PBS'de 2'şer dk. 3 kez yıkanmışlardır.
12. Biotinlenmiş sekonder antikor damlatılmış 10 dakika beklenmiştir.
13. PBS'de 2'şer dk. 3 kez yıkanmışlardır.
14. Streptavidin damlatılmış 10 dakika beklenmiştir.
15. PBS'de 2'şer dk. 3 kez yıkanmışlardır.
16. 1mL'e suya, 1mL AEC karıştırılmıştır. AEC kesitlerin üzerinde dokuyu kaplayacak şekilde damlatılmıştır. Yaklaşık 5 dk. bekletilmiştir. Kesitlerin çok koyulaşmasını önlemek için rengi göz ile kontrol altında tutulmuştur.
17. Distile su ile yıkanmıştır.
18. Mayer Hematoksilen'de 1 dk. bekletilmiştir.
19. Şebeke suyunda yıkanmıştır
20. Kesitlerin üzerine PBS damlatılmıştır.
21. Su bazlı entellan ile kapatılmıştır.

3.4 İmmünohistokimyasal Boyanmanın Değerlendirilmesi

Ekspresyonu membranöz olan $\beta 1$ İntegrin, sitoplazmik olan CD44, FAK ve ECM1 endometrial gland ve stroma boyanması ekspresyon kuvvetine göre incelenmiştir. Ekspresyonu nükleer olan HOXA-11'in glandüler ekspresyonu olmadığından yalnızca stromal nükleer boyanmalar incelenmiştir. Membranöz boyanmada gland epitelinin interselüler alanı esas kabul edilmiştir. Boyanmanın %10'undan azında görülmesi veya hiç boyanmanın olmaması negatif, %10 ile %100 arasındaki boyanma pozitif olarak kabul edilmiştir. Pozitif kontrol ile

karşılaştırılarak, boyanma kuvveti hafif ve şiddetli olarak derecelendirilmiştir. Endometrial stroma ve glandların boyanma şiddeti ayrı ayrı not edilmiştir. Öncelikle gruplar arası karşılaştırmalar boyanma olup olmamasına göre yapılmıştır. Boyanma varlığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmayan olgular tekrar değerlendirilmiş ve boyanma şiddetine göre yeniden analiz edilmiştir.

3.5 İstatistiksel Analiz

Çalışmanın istatistiksel analiz ve hesaplamaları IBM SPSS Statistics 21 (IBM Corp, NA, USA) ile yapıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu grafiksel olarak ve Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Demografik özellikler One Way ANOVA testi ile analiz edildi ve post hoc test olarak Bonferroni kullanıldı. Kategorik verileri değerlendirmede Chi-square ya da Fisher's exact testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık sınırı $p<0.05$ olarak tanımlandı.

4. BULGULAR

4.1 Demografik Özellikler

Çalışmaya dahil edilen kadınların demografik özellikleri Tablo 1’de özetlenmiştir. Çalışma gruplarında yaş, vücut kitle indeksi (VKİ) açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0.07$, $p=0.21$) Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı ve tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalar arasında canlı doğum sayıları açısından fark izlenmemiş olup($p=1$) kontrol grubunda canlı doğum sayısı daha yüksek tespit edilmiştir. ($p<0.01$) Abortus sayıları açısından karşılaştırıldığında tekrarlayan implantasyon başarısızlığı ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamış olup($p=1$), abortus oranı tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda diğer iki gruba göre daha yüksektir($p<0.01$).

Değişken	Kontrol (n=16)	RIF (n=15)	RPL (n=16)	p değeri
Yaş (yıl)	36,7±3,1	35,1±2,4	34,2±3,6	0,07
BMI (kg/m ²)	26,3±3,2	23,9±2,7	24,3±3,7	0,21
Canlı doğum	2,13±0,71	0,13±0,35	0,13±0,34	Sig.a
Abortus	0,13±0,34	0,07±0,25	3,00±0,81	Sig.b

Veriler ortalama değer ± Standart Sapma şeklinde not edilmiştir. RIF: Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı (Recurrent Implantation Failure) RPL: Tekrarlayan gebelik kaybı (Recurrent Pregnancy Loss)

a: Kontrol ile RIF: $p<0,01$ Kontrol ile RPL: $p<0,01$ RIF ile RPL: $p=1,00$

b: Kontrol ile RPL: $p<0,01$ RPL ile RIF: $p<0,01$ Kontrol ile RIF: $p=1,00$

Tablo 1. Demografik Özellikler

4.2 Endometrial Glandüler Boyanmalar

Endometrial glandüler boyanma değerlendirilirken interselüler membranöz boyanmanın tüm glandların %10'undan fazlasında olması pozitif boyanma olarak kabul edildi. Daha azında olması ise negatif olarak kabul edildi.

$\beta 1$ İntegrinin glandüler boyanması gruplar arasında farklılık göstermemekteydi. Endometrial glandlarda, Fokal Adezyon Kinaz (FAK), CD44 ve ECM1 boyanmaları ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı bulundu. (Tablo 2)

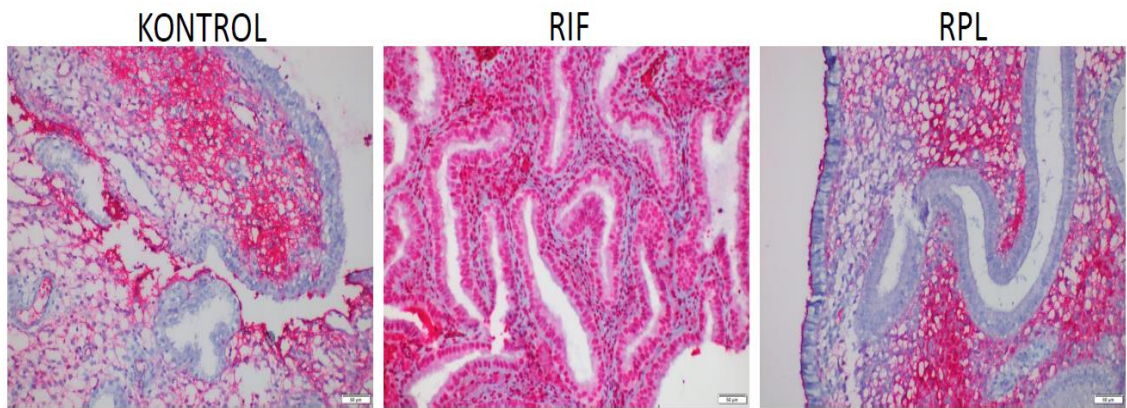
Molekül İsmi	Boyanma Durumu	Kontrol	RIF	RPL	p değeri
$\beta 1$ İntegrin	Pozitif	15 (%94)	15 (%100)	16 (%100)	0,37
	Negatif	1 (%6)	0 (%0)	0 (%0)	
FAK	Pozitif	0 (%0)	6 (%40)	3 (%19)	0,02
	Negatif	16 (%100)	9 (%60)	13 (%81)	
CD44	Pozitif	10 (%62)	10 (%67)	4 (%25)	0,03
	Negatif	6 (%38)	5 (%33)	12 (%75)	
ECM1	Pozitif	12 (%75)	3 (%20)	8 (%50)	<0,01
	Negatif	4 (%25)	12 (%80)	8 (%50)	

Veriler vaka sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. RIF: Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı (Recurrent Implantation Failure) RPL: Tekrarlayan gebelik kaybı (Recurrent Pregnancy Loss) FAK: Fokal Adezyon Kinaz CD44: Cluster of Differentiation 44 ECM1: Extracellular Matrix Protein 1

Tablo 2. Tüm Gruplarda Endometrial Glandüler Boyanma

$\beta 1$ İntegrinin tüm gruplarda tama yakın glandüler boyanma gösterdiği tespit edilmesi üzerine preparatlar tekrar incelendi ve boyanma şiddeti, kullanılan antikorun pozitif kontrolü ile karşılaştırılarak “hafif” ve “şiddetli” şeklinde tekrar değerlendirildi. Bu yeniden boyanma sonrasında $\beta 1$ İntegrinin endometrial glandüler boyanma şiddetinin de gruplar arasında farklılık göstermediği tespit edildi ($p=0,07$; Pearson Chi-Square)

Fokal Adezyon Kinazın kontrol grubunda hiçbir hastada endometrial glandüler boyanma göstermediği tespit edildi. RIF ve RPL grubunda ise endometrial glandüler FAK boyanma artışı tespit edildi. Bu fark RPL grubu için istatistiksel olarak anlamlı değilken ($p=0,11$; Fisher's exact test), RIF grubu için anlamlı idi ($p<0,01$; Fisher's exact test)) (Tablo 3, Tablo 4) (Resim 1)



Resim 1. Endometrial FAK boyanması

Fokal Adezyon Kinazın tüm grupların stromalarında kuvvetli boyanma gösterdiği görülmüyor. Kontrol grubunda ve RPL grubunda endometrial glandlarda boyanma göstermeyen FAK'ın RIF grubunda yoğun glandüler boyanma gösterdiği dikkat çekmektedir.

CD44'ün endometrial glandüler boyanması kontrol grubu ile RIF arasında anlamlı fark göstermezken ($p=0,55$; Fisher's exact test) RPL grubunda anlamlı ölçüde azalmış olarak tespit edildi ($p=0,04$; Fisher's exact test) (Tablo 3, Tablo 4) (Resim 4).

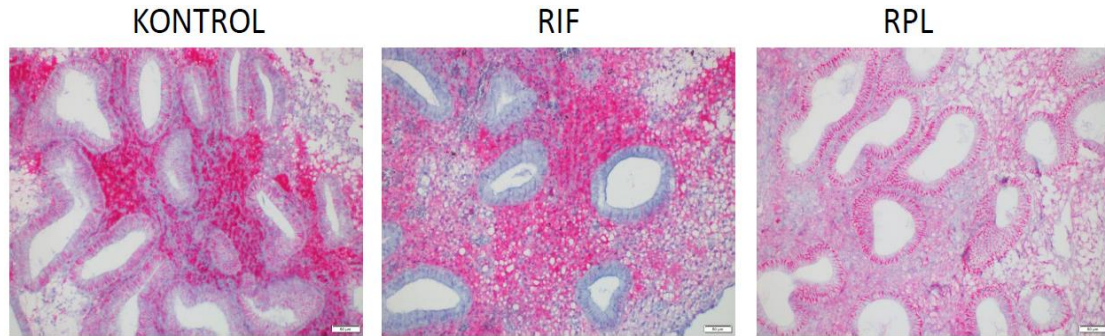
Endometrial glandüler ECM1 boyanması hem RIF hem de RPL grubunda kontrol grubuna göre daha az boyanmakta idi. Bu endometrial glandüler boyanmadaki azalma RPL grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,13$;

Fisher's exact test). RIF grubunun endometrial glandüler ECM1 boyanmasının, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde az olduğu tespit edildi ($p<0,01$; Fisher's exact test) (Tablo 3, Tablo 4) (Resim 2).

Molekül İsmi	Boyanma Durumu	Kontrol	RIF	p değeri
FAK	Pozitif	0 (%0)	6 (%40)	0,007
	Negatif	16 (%100)	9 (%60)	
CD44	Pozitif	10 (%62)	10 (%67)	0,553
	Negatif	6 (%38)	5 (%33)	
ECM1	Pozitif	12 (%75)	3 (%20)	0,003
	Negatif	4 (%25)	12 (%80)	

Veriler vaka sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. RIF: Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı (Recurrent Implantation Failure) FAK: Fokal Adezyon Kinaz CD44: Cluster of Differentiation ECM1: Extracellular Matrix Protein 1

Tablo 3. Tekrarlayan İmplantasyon Başarısızlığı Olan Hastalarda FAK, CD44 ve ECM1'in Endometrial Glandüler Boyanması



Resim 2. Endometrial ECM1 boyanması

Tüm grupların stromalarında kuvvetli ECM1 boyanması izlenmektedir. RIF grubunda endometrial glandlarda boyanma olmayışı dikkat çekmektedir.

Molekül İsmi	Boyanma Durumu	Kontrol	RPL	p değeri
FAK	Pozitif	0 (%0)	3 (%19)	0,113
	Negatif	16 (%100)	13 (%81)	
CD44	Pozitif	10 (%62)	4 (%25)	0,037
	Negatif	6 (%38)	12 (%75)	
ECM1	Pozitif	12 (%75)	8 (%50)	0,137
	Negatif	4 (%25)	8 (%50)	

Veriler vaka sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. RPL: Tekrarlayan gebelik kaybı (Recurrent Pregnancy Loss) FAK: Fokal Adezyon Kinaz CD44: Cluster of Differentiation ECM1: Extracellular Matrix Protein 1

Tablo 4. Tekrarlayan Gebelik Kaybı Olan Hastalarda FAK, CD44 ve ECM1'in Endometrial Glandüler Boyanması

Endometrial glandüler $\beta 1$ İntegrin, FAK, CD44 ve ECM1 boyanmaları incelendiğinde tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan hastalarda ECM1 boyanmasının az olduğu, FAK boyanmasında artış olduğu tespit edildi. Tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda ise CD44'ün endometrial glandüler boyanmasında anlamlı şekilde azalma olduğu saptandı. Hasta gruplarında incelenen diğer moleküller açısından anlamlı fark saptanmadı.

4.3 Endometrial Stromal Boyanmalar

Endometrial stromal boyanma değerlendirilirken tüm stromanın %10'undan azında boyanma olması negatif, %10'undan fazlasında boyanma olması ise pozitif olarak kabul edildi.

HOXA-11, $\beta 1$ İntegrin, FAK ve ECM1'in endometrial stromal boyanması gruplar arasında istatistiksel olarak fark göstermezken ($p>0,05$; Fisher's exact test); CD44 stromal boyanması gruplar arasında anlamlı şekilde farklı bulundu ($p<0,01$; Fisher's exact test) (Tablo 5).

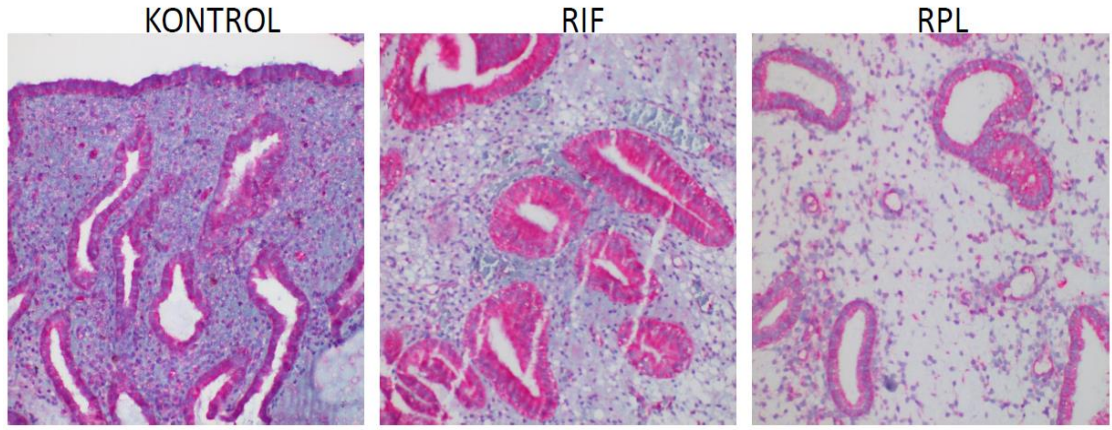
Molekül İsmi	Boyanma Durumu	Kontrol	RIF	RPL	p değeri
HOXA-11	Pozitif	16 (%100)	15 (%100)	15 (%94)	0,37
	Negatif	0 (%0)	0 (%0)	1 (%6)	
β 1 integrin	Pozitif	9 (%56)	7 (%47)	3 (%19)	0,81
	Negatif	7 (%44)	8 (%53)	13 (%81)	
FAK	Pozitif	14 (%88)	14 (%93)	16 (%100)	0,35
	Negatif	2 (%12)	1 (%7)	0 (%0)	
CD44	Pozitif	14 (%88)	7 (%47)	2 (%12)	<0,01
	Negatif	2 (%12)	8 (%53)	14 (%88)	
ECM1	Pozitif	13 (%19)	15 (%100)	15 (%94)	0,16
	Negatif	3 (%81)	0 (%0)	1 (%6)	

Veriler vaka sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. RIF: Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı (Recurrent Implantation Failure) RPL: Tekrarlayan gebelik kaybı (Recurrent Pregnancy Loss) FAK: Fokal Adezyon Kinaz CD44: Cluster of Differentiation ECM1: Extracellular Matrix Protein 1

Tablo 5.Tüm Gruplarda Endometrial Stromal Boyanma

HOXA-11 endometrial stromada tüm gruplarda tama yakın boyanma göstermesi üzerine boyanma şiddeti açısından tekrar değerlendirildi. Boyanma şiddeti, kullanılan antikorun pozitif kontrolü ile karşılaştırılarak “hafif” ve “şiddetli” şeklinde tekrar değerlendirildiğinde boyanma şiddeti açısından da gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı (p=0,75; Pearson Chi-Square).

β 1 İntegrinin endometrial stromal boyanması kontrol grubu ile RIF grubu arasında anlamlı değişkenlik göstermezken (p=0,43; Fisher’s exact test) RPL grubunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede az boyanma gösterdiği tespit edildi (p=0,03; Fisher’s exact test). (Tablo 6, Tablo 7) (Resim 3).

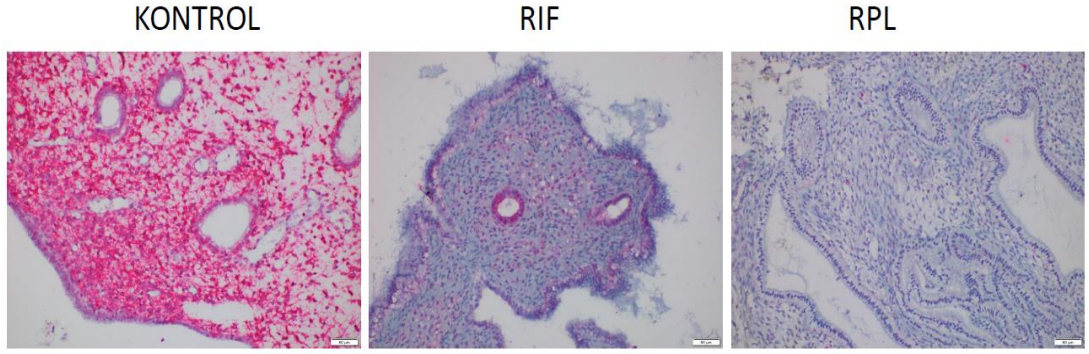


Resim 3. Endometrial $\beta 1$ İntegrin Boyanması

Kontrol ve RIF grubunda kuvvetli endometrial glandüler ve stromal $\beta 1$ İntegrin boyanması izlenmektedir. RPL grubunda da $\beta 1$ İntegrin kuvvetli glandüler boyanma göstermekte olup stromada boyanma olmayışı dikkat çekmektedir.

Endometrial stromal FAK boyanması tüm gruplarda tama yakın oranda pozitif olarak tespit edildi ve boyanıp boyanmama açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0,35$; Pearson Chi-Square). Ardından tüm preperatlarda boyanma şiddeti, kullanılan antikorun pozitif kontrolü ile karşılaştırılarak “hafif” ve “şiddetli” şeklinde tekrar değerlendirildi. Değerlendirme sonucunda gruplar arasında stromal FAK boyanma şiddeti açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0,09$; Pearson Chi-Square).

CD44’ün endometrial stromal boyanması hem RIF grubunda hem de RPL grubunda kontrol grubuna göre azalmış olarak tespit edildi ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,02$, $p<0,01$; Fisher’s exact test) (Tablo 6, Tablo 7) (Resim 4).



Resim 4. Endometrial CD44 Boyanması

CD44'ün RIF grubunda endometrium stromasında boyanma göstermediği izlenmektedir. RPL grubunda endometriumda hiç boyanma olmayışı dikkat çekicidir.

Endometrial stromada ECM1 boyanmasının tüm gruplarda tama yakın oranda pozitif olarak saptanması üzerine tüm preparatlar tekrar değerlendirildi. Boyanma şiddeti, kullanılan antikorun pozitif kontrolüne göre “hafif” veya “şiddetli” şeklinde tekrar değerlendirildi. Gruplar arasında boyanma şiddeti açısından anlamlı fark saptanmadı ($p=0,1$; Pearson Chi-Square).

Molekül İsmi	Boyanma Durumu	Kontrol	RIF	p değeri
$\beta 1$ integrin	Pozitif	9 (%56)	7 (%47)	0,43
	Negatif	7 (%44)	8 (%53)	
CD44	Pozitif	14 (%88)	7 (%47)	0,02
	Negatif	2 (%12)	8 (%53)	

Veriler vaka sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. RIF: Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı (Recurrent Implantation Failure) CD44: Cluster of Differentiation 44

Tablo 6. Tekrarlayan İmplantasyon Başarısızlığı Olan Hastalarda Endometrial Stromal $\beta 1$ İntegrin ve CD44 Boyanması

Molekül İsmi	Boyanma Durumu	Kontrol	RPL	p değeri
$\beta 1$ integrin	Pozitif	9 (%56)	3 (%19)	0,03
	Negatif	7 (%44)	13 (%81)	
CD44	Pozitif	14 (%88)	2 (%12)	<0,01
	Negatif	2 (%12)	14 (%88)	

Veriler vaka sayısı ve yüzde olarak verilmiştir. RPL: Tekrarlayan gebelik kaybı (Recurrent Pregnancy Loss) CD44: Cluster of Differentiation 44

Tablo 7. Tekrarlayan Gebelik Kaybı Olan Hastalarda Endometrial Stromal HOXA11, $\beta 1$ İntegrin ve CD44 Boyanması

Endometrial stromal $\beta 1$ İntegrin, FAK, CD44 ve ECM1 boyamaları değerlendirildiğinde FAK ve ECM1 boyanmasının gruplar arası değişkenlik göstermediği tespit edildi. Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan hastalarda endometrial stromal CD44'te azalma olduğu izlendi. Tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda ise hem CD44 hem de $\beta 1$ İntegrinde endometrial stromal azalma tespit edilmiştir.

Molekül İsmi	RIF	RPL
Stromal HOXA-11	Değişiklik yok (p*)	Değişiklik yok (p=0,50)
Glandüler $\beta 1$ İntegrin	Değişiklik yok (p=0,52)	Değişiklik yok (p=0,50)
Stromal $\beta 1$ İntegrin	Değişiklik yok (p=0,43)	Azalmış (p=0,03)
Glandüler FAK	Artmış (p<0,01)	Değişiklik yok (p=0,11)
Stromal FAK	Değişiklik yok (p=0,52)	Değişiklik yok (p=0,24)
Glandüler CD44	Değişiklik yok (p=0,55)	Azalmış (p=0,04)
Stromal CD44	Azalmış (p=0,02)	Azalmış (p<0,01)
Glandüler ECM1	Azalmış (p<0,01)	Değişiklik yok (p=0,14)
Stromal ECM1	Değişiklik yok (p=0,12)	Değişiklik yok (p=0,30)

RIF: Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı (Recurrent Implantation Failure) RPL: Tekrarlayan gebelik kaybı (Recurrent Pregnancy Loss) FAK: Fokal Adezyon Kinaz CD44: Cluster of Differentiation 44 ECM1: Extracellular Matrix Protein 1

*: Her iki grup da %100 boyanma göstermiştir.

Tablo 8. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, RIF ve RPL gruplarında endometrial HOXA-11, $\beta 1$ İntegrin, FAK, CD44 ve ECM1'in boyanmalarındaki değişiklikler

5. TARTIŞMA

Endometrial reseptivite, 1950'li yıllarda endometrial günleme için Noyes kriterlerinin belirlenmesinden beri üzerinde çalışılmakta olan konulardandır [87]. Ne yazık ki, embriyonun implantasyonuna ilişkin moleküler mekanizmalar hakkında hala çok az bilgi vardır [75]. Günümüzde kullanımı artan IVF teknolojileriyle birlikte, RIF ve RPL oranındaki artışa bağlı olarak endometrial reseptivite çalışmaları hala önem arz etmektedir.

Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı, IVF tedavisi gören kadınlarda %10 oranında tespit edilmektedir. Tekrarlayan implantasyon başarısızlığına uterin organik patolojiler, blastokist faktörü, immünolojik faktörler gibi birçok neden olabilecek patoloji tespit edilmiştir [22]. Ancak nedeni bilinmeyen RIF, IVF başarısızlıklarında son zamanlarda ciddi bir problem oluşturmaktadır. Bu nedenle endometrial reseptiviteyi etkileyerek RIF nedeni olabilecek moleküller üzerine çalışmalar devam etmektedir.

Tekrarlayan gebelik kaybı ise 300 kadında 1 görülen bir problemdir [48]. Artan yaş ile birlikte RPL riski artmakla beraber yaştan bağımsız olarak birçok faktörün RPL riskini artırdığı gösterilmiştir[13]. Bunun yanı sıra nedeni bilinmeyen tekrarlayan gebelik kaybı olan kadınlarda, endometrial reseptiviteye etkili olabilecek birçok molekülün ekspresyonunda değişiklik olup olmadığı halen çalışılmaktadır.

Bu çalışma, tekrarlayan gebelik kayıpları olan ve açıklanamayan tekrarlayan implantasyon başarısızlıkları olan kadınların, zamanlanmış endometrial biyopsilerinde HOXA-11, $\beta 1$ İntegrin, FAK, CD44 ve ECM1 ekspresyonunu değerlendirmek için tasarlanmıştır. HOXA-11'in yalnızca stromal hücrelerin

nükleuslarında eksprese edildiği, $\beta 1$ İntegrinin hem gland hem de stromada membranöz boyanma paterni gösterdiği, FAK, CD44 ve ECM1'in ise glandüler ve stromal hücrelerde sitoplazmik boyanma gösterdiği izlenmiştir.

Bu çalışmada tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan kadınlarda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, HOXA-11 ve $\beta 1$ İntegrin ekspresyonunda anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Fokal Adezyon Kinazın glandüler hücrelerdeki ekspresyonunun kontrol grubuna oranla anlamlı derecede artmış olduğu ($p<0,01$); glandüler hücrelerde ECM1 ve stromal hücrelerde CD44 ekspresyonunun ise anlamlı şekilde azalmış olduğu ($p<0,01$) tespit edilmiştir.

Çalışmamızda tekrarlayan implantasyon başarısızlıkları olan hastalarda endometrial HOXA-11 ekspresyonunda değişiklik saptanmamıştır ($p>0,05$). HOXA-11 bir homeobox genidir. HOX transkripsiyon genleri, hücre-hücre ve hücre-ekstraselüler matrix adezyonunu modüle ederek implantasyonda önemli rol oynamaktadır [88]. 2006 yılında Daftary G.S. ve arkadaşlarının yaptıkları derlemede, HOXA-11 ekspresyonunun implantasyon penceresi döneminde artış gösterdiği tespit edilmiştir [76]. Szczepanska M. ve ark. 2011 yılında endometriomasi olan açıklanamayan infertil hastalarda yaptıkları çalışmada ise PCR ile HOXA-11 ekspresyonunda artış olmasının HOXA-11 protein düzeyine immünohistokimyasal olarak yansımayabileceği gösterilmiştir[89]. Bizim çalışmamızda da HOXA-11 ekspresyonundaki değişimin, endometriumda immünohistokimyasal olarak gösterilememesi Szczepanska M. ve ark sonucu gibi yorumlanabilir.

Bu çalışmada tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan hastalarda $\beta 1$ İntegrin düzeyinde artış olduğu tespit edilmiş (RIF grubunda %100, kontrol grubunda %94), ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,43$). Ayrıca, Fokal Adezyon Kinaz düzeyinin ise RIF grubunda daha yüksek olduğu tespit

edilmiştir ($p<0,05$). İntegrinler, hücre-hücre ve hücre-ekstraselüler matriks adezyonuna aracılık eden α ve β alt birimlerinden oluşan, büyük transmembran proteinlerdir. İntegrinler hücre iskelet elemanlarına bağlanarak uterin epitel hücrelerinin birbirine daha sıkı bağlanmasını sağlarlar. İntegrinlerin hücre iskelet proteinlerine bağlanmasının ardından, fokal adezyon bölgelerinde bulunan bir tirozin kinaz olan FAK aktive edilir. Lindsay ve arkadaşlarının 2016 yılında ratlar ile yaptıkları çalışmada; uterin epitelyal hücrelerin implantasyon sırasında, birbirine daha az yapışabilme kabiliyetinin, blastokistin altta yatan stromaya girmesini ve daha sonra bir plasentanın oluşmasını sağlamak için gerekli olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Aynı çalışmada fokal adezyonların artışının uterin endometrial hücreleri daha kompakt bir hale getirerek implantasyon için bir bariyer görevi görebileceği gösterilmiştir [90]. Bizim çalışmamızda da Lindsay ve arkadaşlarının sonuçlarını destekler şekilde, tekrarlayan implantasyon başarısızlığında endometriumun bariyer fonksiyonunda artış olabileceğini düşündürmüştür.

İmplantasyonda rol alan ve aşırı invazyon durumunda artış gösteren CD44'ün, bu çalışmada tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan hastalarda endometrial stromada anlamlı şekilde azalma gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0,05$). CD44 transmembran bir glikoprotein olup hyaluronik asit için majör reseptör görevi görmektedir [91]. Afify A.M. ve arkadaşları tarafından endometriumda implantasyon penceresi dönemini de içeren sekretuar fazda ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir [91]. CD44 artışının plasental anjiogeneze kritik rol oynayan, moleküler düzeydeki değişimlerden biri olduğu tespit edilmiştir [92]. Raheem K.A. tarafından 2017 yılında yapılan derlemede, endometrium epitelindeki CD44'ün embriyo implantasyonunda önemli rol oynadığı tespit edilmiştir [93]. Son zamanlarda CD44 artışının, endometriozis patofizyolojisinde endometriumun fazla invaziv olmasından

sorumlu olabilecek mekanizmalardan biri olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur [85]. Literatürde, CD44 ile tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan hastalarda yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bizim çalışmamız tekrarlayan implantasyon başarısızlığında endometriumda CD44'ün araştırıldığı ilk çalışmadır. CD44'ün RIF olan hastaların endometriumunda azalma gösterdiği tespit edilmiş olup, Pazhohan ve arkadaşlarının endometrioiziste aşırı invazyon sorumlu olduğu hipotezine dayanarak, bizim çalışmamızda tam tersi olarak implantasyonun azaldığı durumlarda da CD44 azalması CD44 'ün implantasyondaki etkisini teyit etmektedir.

Extracellular Matrix Protein 1, ilk olarak mürin osteogenik stromal hücrelerde tanımlanmış, glikoprotein yapıda bir ekstraselüler matriks üyesidir. Ciltte hücreler arası köprü görevi görmektedir ve birçok dermatolojik hastalıkta ekspresyonu değişmektedir [94, 95]. Ekspresyonundaki artışın kanser fizyopatolojisinde rol oynadığına dair çalışmalar mevcuttur [96-98]. Bu tez çalışmasında tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan hastalardan, endometriumun reseptif olduğu dönemde alınan endometrial biyopsiler incelendiğinde, endometrial gland epitelinde ECM1 boyanmasının azalmış olduğu izlenmiştir ($p<0,05$). İnsan endometriumunda ECM1 ekspresyonuna dair ise 2 adet çalışma mevcuttur. İlki 2008 yılında Hannan N.J. ve arkadaşlarının, birinci trimester küretaj materyallerinde, maternal-fetal yüzde ECM1 ekspresyon değişikliğini araştırdıkları çalışmadır [86]. Onların çalışmasında implantasyon alanında ECM1 ekspresyonunun arttığı tespit edilmiştir. Fitzgerald H.C. ve arkadaşlarının 2018 yılında açıklanamayan infertil kadınlarda yaptıkları çalışmada ise uterin lavaj sıvısında ECM1 ekspresyonunda azalma saptanmıştır [9]. Ancak bu azalma immünohistokimyasal boyamalarda korelasyon göstermemiştir. Bunun nedeni, bu çalışmada endometrial örneklerin proliferatif fazda alınması ve endometrial reseptivite penceresine denk gelmemesi

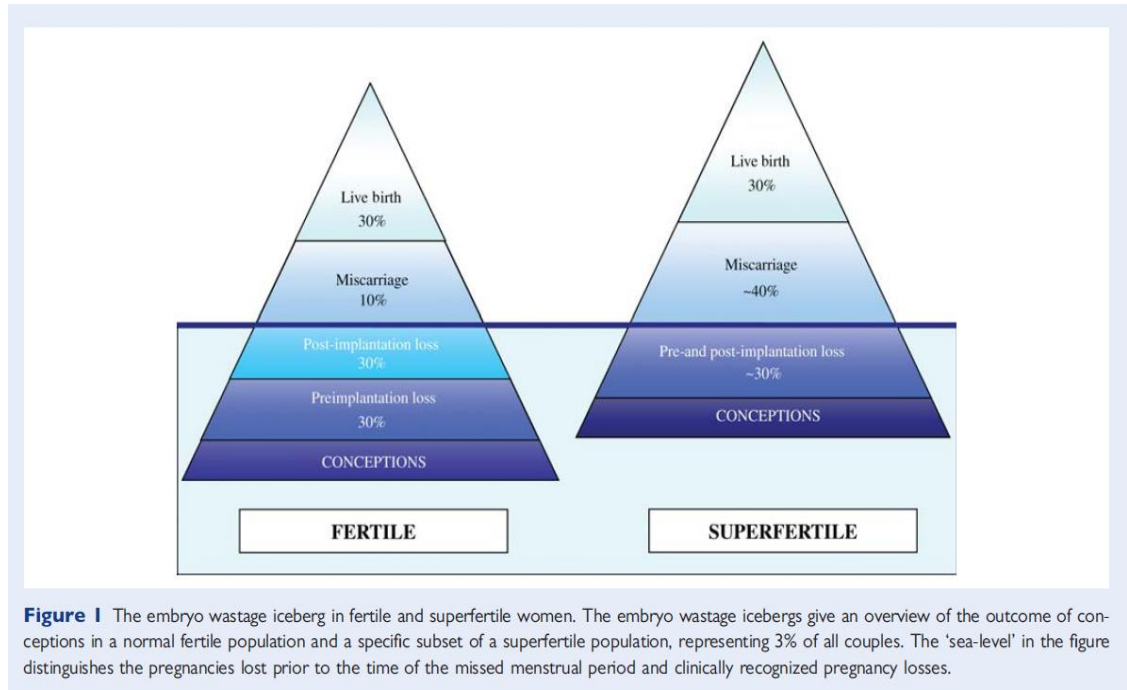
olabilir. Bizim çalışmamızda tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan hastalarda endometriumun reseptif döneminde ilk kez ECM1 çalışılması önem arz etmekte olup daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışmada; tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, RPL öyküsü olan kadınlarda HOXA-11, FAK ve ECM1'in endometrial boyanmalarında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$). RPL öyküsü olan hastalarda endometrial stromal hücrelerde $\beta 1$ İntegrin düzeyinde ve tüm endometrial hücrelerde CD44 düzeyinde anlamlı şekilde azalma tespit edilmiştir ($p<0,05$).

İmplantasyon penceresinde ekspresyon artışı gösterdiği kanıtlanmış olan HOXA-11'in, bir implantasyon problemi olan RPL'de endometrial boyanmasında fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Literatürde endometrioma, polikistik over sendromu gibi infertiliteye neden olabilecek hastalıklarda HOXA-11 araştırılmasına dair yayınlar mevcuttur; fakat tekrarlayan gebelik kaybı ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır [7, 77]. Daha önce de belirttiğimiz üzere, Szczepanska M. ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma sonuçlarına benzer şekilde, HOXA-11'deki değişimin endometriumda immünohistokimyasal olarak gösterilemeyebileceği düşünülmekle beraber, örneklem büyüklüğünün daha fazla olduğu daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

İntegrinler ve FAK, daha önce de belirtildiği gibi endometriumun bariyer fonksiyonu görmesinde, epitelyal hücrelerin birbirine sıkı bağlanmasında rol oynamaktadır. Teklenburg G. ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptıkları derlemede, tekrarlayan gebelik kaybının, endometriumdaki seçiciliğin azalmasına ve süperfertilizasyona bağlı olabileceği sonucuna ulaşılmıştır [99] (Şekil 5). Teklenburg G. ve arkadaşlarının hipotezine benzer şekilde, bu çalışmada tekrarlayan gebelik

kaybı olan hastaların endometrium stromasında $\beta 1$ İntegrin düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalma tespit edilmiştir ($p < 0,05$). FAK düzeyinde ise fark saptanmamıştır ($p > 0,05$). $\beta 1$ İntegrinin stromal hücrelerde azalması endometrial hücrelerin birbirine sıkı bağlanmasını engelleyerek embriyo için endometrial seçiciliği azaltıyor olabilir. Bu durumda, implantasyon artarken erken gebelik kaybı oranı artışına neden olabilir.



Şekil 4. Teklenburg G. Ve arkadaşlarının RPL’de Süperfertilite Hipotezi [99]

Bu çalışmada CD44 ekspresyonunun tekrarlayan gebelik kaybı olan hastaların endometriumunda anlamlı şekilde azalma gösterdiği tespit edilmiştir ($p < 0,05$). CD44 endometrial hücrelerde bulunan ve embriyo ile endometrium arasında bağ kurulmasına yarayan , vasküler invazyonda rol alan transmembran bir glikoproteindir [91]. Bizim çalışmamızın sonucunda tespit ettiğimiz CD44 azalması, RPL olgularında vasküler invazyon ve plasental anjiogenezde defekt olduğunu

düşündürmektedir. Bu da artmış abortus için muhtemel bir patofizyolojik mekanizma olarak düşünülebilir. Literatürde tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda CD44 ile ilgili yapılmış başka bir çalışma tespit edilmemiş olup bu konuda daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu tez çalışmasında; her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı olmasa da tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda endometrial ECM1 düzeyinde azalma tespit edilmiştir ($p>0,05$). Bu da çok erken gebelik kayıplarında muhtemel mekanizmalardan biri olarak düşünülebilir. Endometriumda ECM1 düzeyini araştıran sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Mevcut çalışmalarda ise sonuçlar; endometrial ECM1 düzeyinin infertil hastalarda azaldığı ve gebelik oluştuğunda maternal-fetal yüzde artış gösterdiği şeklindedir [9, 86]. Hannan N.J. ve arkadaşlarının 2008 yılında yaptıkları çalışmada birinci trimester abortus materyalleri incelenmiş olup bu hastalar RPL öyküsüne sahip değildir [86]. Bu çalışmada açıklanamayan tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda, ilk kez ECM1 araştırılmış olup daha çok hasta sayısı ile daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇ

Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı ve tekrarlayan gebelik kaybı, günümüzde IVF teknolojilerinin yaygınlaşması ile, giderek artan problemlerdir. Hem tekrarlayan implantasyon başarısızlığı hem de tekrarlayan gebelik kaybı fizyopatolojisi net olarak aydınlatılamamıştır. Endometrial reseptivite çalışmaları fizyopatolojiyi anlamak için ivme kazanmıştır ve umut vaad etmektedir. Bu çalışma ile

- Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan hastaların endometriumunda, reseptif dönemde;
 - Glandüler hücrelerde FAK düzeyinin artmış olduğu, bu artışın endometriumun bariyer fonksiyonunu artırdığı
 - Stromal hücrelerde CD44 düzeyinin azalmış olduğu
 - Glandüler hücrelerde ECM1 düzeyinin azalmış olduğu tespit edilmiştir.
 - CD44 ve ECM1 azalmasının embriyonun endometriuma tutunmasını olumsuz yönde etkilediği düşünülmektedir.
 - HOXA-11 ve $\beta 1$ İntegrin düzeyinin ise değişiklik göstermediği saptanmıştır.
- Tekrarlayan gebelik kaybı olan hastaların endometriumunda, reseptif dönemde;
 - Stromal hücrelerde $\beta 1$ İntegrin düzeyinin azalmış olduğu, bu azalmanın süperfertiliteye yol açabileceği

- CD44 düzeyinin azalmış olduğu, bu azalmaya bağlı olarak embriyonun endometriuma vasküler invazyonunda ve plasantasyonunda defekt olabileceği sonucuna ulaşılmıştır.
- HOXA11, FAK ve ECM1 düzeyinde değişiklik saptanmamıştır.

Bu çalışma “tekrarlayan gebelik kaybı” ve “tekrarlayan implantasyon başarısızlığı” olmak üzere, implantasyonun çeşitli aşamalarında defekt olduğu düşünülen iki hasta grubunda endometrial reseptiviteye ve fizyopatolojiye ışık tutmaktadır. Araştıran moleküllerin çoğu, bu hasta gruplarında ilk kez çalışılmıştır. Endometriumun reseptivitesini anlamak, RPL ve RIF fizyopatolojisini anlayarak tedavide yeni yollar katedebilmek için daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla RIF ve RPL’ye yol açabileceği gösterilmiş olan kronik endometrit, luteal faz yetmezliği, endometrial g nlemede dissenkronizasyon gibi durumlarda da bizim çalışmamızdaki moleküllerin çalışılması yol gösterici olabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Strowitzki, T., et al., *The human endometrium as a fertility-determining factor*. Hum Reprod Update, 2006. **12**(5): p. 617-30.
2. Diedrich, K., et al., *The role of the endometrium and embryo in human implantation*. Hum Reprod Update, 2007. **13**(4): p. 365-77.
3. Norwitz, E.R., D.J. Schust, and S.J. Fisher, *Implantation and the survival of early pregnancy*. N Engl J Med, 2001. **345**(19): p. 1400-8.
4. Li, T.C., E.M. Tuckerman, and S.M. Laird, *Endometrial factors in recurrent miscarriage*. Hum Reprod Update, 2002. **8**(1): p. 43-52.
5. Berek, J.S., *Infertility and Assisted Reproductive Technology*, in *Berek & Novak's Gynecology Fifteenth Edition Chapter 32*. 2014. p. 1159.
6. Cakmak, H. and H.S. Taylor, *Implantation failure: molecular mechanisms and clinical treatment*. Hum Reprod Update, 2011. **17**(2): p. 242-53.
7. Celik, O., et al., *Laparoscopic endometrioma resection increases peri-implantation endometrial HOXA-10 and HOXA-11 mRNA expression*. Fertil Steril, 2015. **104**(2): p. 356-65.
8. Hanashi, H., et al., *Physiologic role of decidual beta1 integrin and focal adhesion kinase in embryonic implantation*. Endocr J, 2003. **50**(2): p. 189-98.
9. Fitzgerald, H.C., et al., *Idiopathic infertility in women is associated with distinct changes in proliferative phase uterine fluid proteins*. Biol Reprod, 2018. **98**(6): p. 752-764.
10. Zegers-Hochschild, F., et al., *The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017*. Hum Reprod, 2017. **32**(9): p. 1786-1801.
11. Practice Committee of American Society for Reproductive, M., *Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion*. Fertil Steril, 2013. **99**(1): p. 63.
12. Inhorn, M.C. and P. Patrizio, *Infertility around the globe: new thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century*. Hum Reprod Update, 2015. **21**(4): p. 411-26.
13. Fritz, M.A. and L. Speroff, *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility, Eight Edition Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins*. 2005.
14. Yen & Jaffe's *Reproductive Endocrinology, Eight Edition, Chapter 22; Female Infertility*. 2019.
15. Casper, R.F. and E.H. Yanushpolsky, *Optimal endometrial preparation for frozen embryo transfer cycles: window of implantation and progesterone support*. Fertil Steril, 2016. **105**(4): p. 867-72.
16. Ruiz-Alonso, M., D. Blesa, and C. Simon, *The genomics of the human endometrium*. Biochim Biophys Acta, 2012. **1822**(12): p. 1931-42.
17. Cavagna, M. and J.C. Mantese, *Biomarkers of endometrial receptivity--a review*. Placenta, 2003. **24 Suppl B**: p. S39-47.
18. Bonilla-Musoles, F., et al., *Endometrial receptivity: evaluation with ultrasound*. Ultrasound Q, 2013. **29**(1): p. 3-20.
19. Nikas, G., *Cell-surface morphological events relevant to human implantation*. Hum Reprod, 1999. **14 Suppl 2**: p. 37-44.
20. Quinn, C.E. and R.F. Casper, *Pinopodes: a questionable role in endometrial receptivity*. Hum Reprod Update, 2009. **15**(2): p. 229-36.
21. Zohni, K.M., I. Gat, and C. Librach, *Recurrent implantation failure: a comprehensive review*. Minerva Ginecol, 2016. **68**(6): p. 653-67.

22. Coughlan, C., et al., *Recurrent implantation failure: definition and management*. Reprod Biomed Online, 2014. **28**(1): p. 14-38.
23. Ferraretti, A.P., et al., *ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria*. Hum Reprod, 2011. **26**(7): p. 1616-24.
24. Wang, L.Y., et al., *Mitochondrial functions on oocytes and preimplantation embryos*. J Zhejiang Univ Sci B, 2009. **10**(7): p. 483-92.
25. Nottola, S.A., et al., *The ultrastructure of human cumulus-corona cells at the time of fertilization and early embryogenesis. A scanning and transmission electron microscopic study in an in vitro fertilization program*. Arch Histol Cytol, 1991. **54**(2): p. 145-61.
26. Hernandez-Gonzalez, I., et al., *Gene expression profiles of cumulus cell oocyte complexes during ovulation reveal cumulus cells express neuronal and immune-related genes: does this expand their role in the ovulation process?* Mol Endocrinol, 2006. **20**(6): p. 1300-21.
27. Assou, S., et al., *Human cumulus cells as biomarkers for embryo and pregnancy outcomes*. Mol Hum Reprod, 2010. **16**(8): p. 531-8.
28. Benkhalifa, M., et al., *Autologous embryo-cumulus cells co-culture and blastocyst transfer in repeated implantation failures: a collaborative prospective randomized study*. Zygote, 2012. **20**(2): p. 173-80.
29. Morris, I.D., *Sperm DNA damage and cancer treatment*. Int J Androl, 2002. **25**(5): p. 255-61.
30. Raziel, A., et al., *Increased frequency of female partner chromosomal abnormalities in patients with high-order implantation failure after in vitro fertilization*. Fertil Steril, 2002. **78**(3): p. 515-9.
31. Taylor, E. and V. Gomel, *The uterus and fertility*. Fertil Steril, 2008. **89**(1): p. 1-16.
32. Pabuccu, R. and V. Gomel, *Reproductive outcome after hysteroscopic metroplasty in women with septate uterus and otherwise unexplained infertility*. Fertil Steril, 2004. **81**(6): p. 1675-8.
33. Grimbizis, G.F., et al., *Clinical implications of uterine malformations and hysteroscopic treatment results*. Hum Reprod Update, 2001. **7**(2): p. 161-74.
34. Liatsikos, S.A., et al., *HOX A10 and HOX A11 mutation scan in congenital malformations of the female genital tract*. Reprod Biomed Online, 2010. **21**(1): p. 126-32.
35. Taylor, H.S., *The role of HOX genes in the development and function of the female reproductive tract*. Semin Reprod Med, 2000. **18**(1): p. 81-9.
36. Taylor, H.S., *The role of HOX genes in human implantation*. Hum Reprod Update, 2000. **6**(1): p. 75-9.
37. Bernard, G., et al., *Fertility after hysteroscopic myomectomy: effect of intramural myomas associated*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2000. **88**(1): p. 85-90.
38. Fernandez, H., et al., *Hysteroscopic resection of submucosal myomas in patients with infertility*. Hum Reprod, 2001. **16**(7): p. 1489-92.
39. Pritts, E.A., W.H. Parker, and D.L. Olive, *Fibroids and infertility: an updated systematic review of the evidence*. Fertil Steril, 2009. **91**(4): p. 1215-23.
40. Sunkara, S.K., et al., *The effect of intramural fibroids without uterine cavity involvement on the outcome of IVF treatment: a systematic review and meta-analysis*. Hum Reprod, 2010. **25**(2): p. 418-29.
41. Metwally, M., C.M. Farquhar, and T.C. Li, *Is another meta-analysis on the effects of intramural fibroids on reproductive outcomes needed?* Reprod Biomed Online, 2011. **23**(1): p. 2-14.

42. Maheshwari, A., et al., *Adenomyosis and subfertility: a systematic review of prevalence, diagnosis, treatment and fertility outcomes*. Hum Reprod Update, 2012. **18**(4): p. 374-92.
43. Bromley, B., T.D. Shipp, and B. Benacerraf, *Adenomyosis: sonographic findings and diagnostic accuracy*. J Ultrasound Med, 2000. **19**(8): p. 529-34; quiz 535-6.
44. Bazot, M., et al., *Limitations of transvaginal sonography for the diagnosis of adenomyosis, with histopathological correlation*. Ultrasound Obstet Gynecol, 2002. **20**(6): p. 605-11.
45. Richlin, S.S., et al., *Glycodelin levels in uterine flushings and in plasma of patients with leiomyomas and polyps: implications for implantation*. Hum Reprod, 2002. **17**(10): p. 2742-7.
46. Varasteh, N.N., et al., *Pregnancy rates after hysteroscopic polypectomy and myomectomy in infertile women*. Obstet Gynecol, 1999. **94**(2): p. 168-71.
47. Bosteels, J., et al., *The effectiveness of hysteroscopy in improving pregnancy rates in subfertile women without other gynaecological symptoms: a systematic review*. Hum Reprod Update, 2010. **16**(1): p. 1-11.
48. Berek, J.S., *Berek & Novak's Gynecology Sixteenth Edition*. 2019.
49. Demirel, A. and T. Gurgan, *Effect of treatment of intrauterine pathologies with office hysteroscopy in patients with recurrent IVF failure*. Reprod Biomed Online, 2004. **8**(5): p. 590-4.
50. Johnston-MacAnanny, E.B., et al., *Chronic endometritis is a frequent finding in women with recurrent implantation failure after in vitro fertilization*. Fertil Steril, 2010. **93**(2): p. 437-41.
51. Cicinelli, E., et al., *Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy*. Hum Reprod, 2015. **30**(2): p. 323-30.
52. Park, H.J., et al., *Chronic endometritis and infertility*. Clin Exp Reprod Med, 2016. **43**(4): p. 185-192.
53. Greenwood, S.M. and J.J. Moran, *Chronic endometritis: morphologic and clinical observations*. Obstet Gynecol, 1981. **58**(2): p. 176-84.
54. Kitaya, K. and T. Yasuo, *Immunohistochemical and clinicopathological characterization of chronic endometritis*. Am J Reprod Immunol, 2011. **66**(5): p. 410-5.
55. Cicinelli, E., et al., *Endometrial micropolyps at fluid hysteroscopy suggest the existence of chronic endometritis*. Hum Reprod, 2005. **20**(5): p. 1386-9.
56. Cicinelli, E., et al., *Chronic endometritis: correlation among hysteroscopic, histologic, and bacteriologic findings in a prospective trial with 2190 consecutive office hysteroscopies*. Fertil Steril, 2008. **89**(3): p. 677-84.
57. Grunfeld, L., et al., *High-resolution endovaginal ultrasonography of the endometrium: a noninvasive test for endometrial adequacy*. Obstet Gynecol, 1991. **78**(2): p. 200-4.
58. Barker, M.A., et al., *Follicular and luteal phase endometrial thickness and echogenic pattern and pregnancy outcome in oocyte donation cycles*. J Assist Reprod Genet, 2009. **26**(5): p. 243-9.
59. D'Arpe, S., et al., *Management of hydrosalpinx before IVF: a literature review*. J Obstet Gynaecol, 2015. **35**(6): p. 547-50.
60. Bildirici, I., et al., *A prospective evaluation of the effect of salpingectomy on endometrial receptivity in cases of women with communicating hydrosalpinges*. Hum Reprod, 2001. **16**(11): p. 2422-6.

61. Seli, E., et al., *Removal of hydrosalpinges increases endometrial leukaemia inhibitory factor (LIF) expression at the time of the implantation window*. Hum Reprod, 2005. **20**(11): p. 3012-7.
62. Marron, K., D. Walsh, and C. Harrity, *Detailed endometrial immune assessment of both normal and adverse reproductive outcome populations*. J Assist Reprod Genet, 2019. **36**(2): p. 199-210.
63. Nowak, I., et al., *KIR, LILRB and their Ligands' Genes as Potential Biomarkers in Recurrent Implantation Failure*. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2017. **65**(5): p. 391-399.
64. Roberts, C.L., et al., *Association between interpregnancy interval and the risk of recurrent loss after a midtrimester loss*. Hum Reprod, 2016. **31**(12): p. 2834-2840.
65. Wong, L.F., et al., *The effect of a very short interpregnancy interval and pregnancy outcomes following a previous pregnancy loss*. Am J Obstet Gynecol, 2015. **212**(3): p. 375 e1-11.
66. Nybo Andersen, A.M., et al., *Maternal age and fetal loss: population based register linkage study*. BMJ, 2000. **320**(7251): p. 1708-12.
67. Philipp, T., et al., *Embryoscopic and cytogenetic analysis of 233 missed abortions: factors involved in the pathogenesis of developmental defects of early failed pregnancies*. Hum Reprod, 2003. **18**(8): p. 1724-32.
68. RPL, E.G.G.o., et al., *ESHRE guideline: recurrent pregnancy loss*. Hum Reprod Open, 2018. **2018**(2): p. hoy004.
69. Practice Committee of the American Society for Reproductive, M., *Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion*. Fertil Steril, 2012. **98**(5): p. 1103-11.
70. Kofod, L., A. Lindhard, and T.V.F. Hviid, *Implications of uterine NK cells and regulatory T cells in the endometrium of infertile women*. Hum Immunol, 2018. **79**(9): p. 693-701.
71. Ticconi, C., et al., *Endometrial Immune Dysfunction in Recurrent Pregnancy Loss*. Int J Mol Sci, 2019. **20**(21).
72. Zargar, M., et al., *Evaluating Chronic Endometritis in Women with Recurrent Implantation Failure and Recurrent Pregnancy Loss by Hysteroscopy and Immunohistochemistry*. J Minim Invasive Gynecol, 2019.
73. Kimura, F., et al., *Review: Chronic endometritis and its effect on reproduction*. J Obstet Gynaecol Res, 2019. **45**(5): p. 951-960.
74. Fatemi, H.M. and B. Popovic-Todorovic, *Implantation in assisted reproduction: a look at endometrial receptivity*. Reprod Biomed Online, 2013. **27**(5): p. 530-8.
75. Achache, H. and A. Revel, *Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation*. Hum Reprod Update, 2006. **12**(6): p. 731-46.
76. Daftary, G.S. and H.S. Taylor, *Endocrine regulation of HOX genes*. Endocr Rev, 2006. **27**(4): p. 331-55.
77. Kara, M., et al., *Evaluation of Endometrial Receptivity by Measuring HOXA-10, HOXA-11, and Leukemia Inhibitory Factor Expression in Patients with Polycystic Ovary Syndrome*. Gynecol Minim Invasive Ther, 2019. **8**(3): p. 118-122.
78. Abedi, H. and I. Zachary, *Vascular endothelial growth factor stimulates tyrosine phosphorylation and recruitment to new focal adhesions of focal adhesion kinase and paxillin in endothelial cells*. J Biol Chem, 1997. **272**(24): p. 15442-51.
79. Jarad, G., et al., *Fas activation induces renal tubular epithelial cell beta 8 integrin expression and function in the absence of apoptosis*. J Biol Chem, 2002. **277**(49): p. 47826-33.
80. Mitra, S.K., et al., *Intrinsic FAK activity and Y925 phosphorylation facilitate an angiogenic switch in tumors*. Oncogene, 2006. **25**(44): p. 5969-84.

81. Shen, T.L., et al., *Conditional knockout of focal adhesion kinase in endothelial cells reveals its role in angiogenesis and vascular development in late embryogenesis*. J Cell Biol, 2005. **169**(6): p. 941-52.
82. Kumar, V., et al., *Integrin beta8 (ITGB8) activates VAV-RAC1 signaling via FAK in the acquisition of endometrial epithelial cell receptivity for blastocyst implantation*. Sci Rep, 2017. **7**(1): p. 1885.
83. Yan, Y., X. Zuo, and D. Wei, *Concise Review: Emerging Role of CD44 in Cancer Stem Cells: A Promising Biomarker and Therapeutic Target*. Stem Cells Transl Med, 2015. **4**(9): p. 1033-43.
84. Ponta, H., L. Sherman, and P.A. Herrlich, *CD44: from adhesion molecules to signalling regulators*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2003. **4**(1): p. 33-45.
85. Pazhohan, A., et al., *Expression and shedding of CD44 in the endometrium of women with endometriosis and modulating effects of vitamin D: A randomized exploratory trial*. J Steroid Biochem Mol Biol, 2018. **178**: p. 150-158.
86. Hannan, N.J. and L.A. Salamonsen, *CX3CL1 and CCL14 regulate extracellular matrix and adhesion molecules in the trophoblast: potential roles in human embryo implantation*. Biol Reprod, 2008. **79**(1): p. 58-65.
87. Noyes, R.W., A.T. Hertig, and J. Rock, *Dating the endometrial biopsy*. Am J Obstet Gynecol, 1975. **122**(2): p. 262-3.
88. Taniguchi, Y., *Hox transcription factors: modulators of cell-cell and cell-extracellular matrix adhesion*. Biomed Res Int, 2014. **2014**: p. 591374.
89. Szczepanska, M., et al., *Expression of HOXA-10 and HOXA-11 in the endometria of women with idiopathic infertility*. Folia Histochem Cytobiol, 2011. **49**(1): p. 111-8.
90. Lindsay, L.A., S.N. Dowland, and C.R. Murphy, *Uterine focal adhesions are retained at implantation after rat ovarian hyperstimulation*. Reproduction, 2016. **152**(6): p. 753-763.
91. Afify, A.M., S. Craig, and A.F. Paulino, *Temporal variation in the distribution of hyaluronic acid, CD44s, and CD44v6 in the human endometrium across the menstrual cycle*. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2006. **14**(3): p. 328-33.
92. Goshen, R., et al., *Hyaluronan, CD44 and its variant exons in human trophoblast invasion and placental angiogenesis*. Mol Hum Reprod, 1996. **2**(9): p. 685-91.
93. Raheem, K.A., *Cytokines, growth factors and macromolecules as mediators of implantation in mammalian species*. Int J Vet Sci Med, 2018. **6**(Suppl): p. S6-S14.
94. Dertlioglu, S.B., et al., *Extracellular Matrix Protein 1 Gene Mutation in Turkish Patients with Lipoid Proteinosis*. Indian J Dermatol, 2019. **64**(6): p. 436-440.
95. Tran, D.A., et al., *Lichen Sclerosus: An autoimmunopathogenic and genomic enigma with emerging genetic and immune targets*. Int J Biol Sci, 2019. **15**(7): p. 1429-1439.
96. Jia, B., et al., *Long noncoding RNA FALEC inhibits proliferation and metastasis of tongue squamous cell carcinoma by epigenetically silencing ECM1 through EZH2*. Aging (Albany NY), 2019. **11**(14): p. 4990-5007.
97. Huang, W., et al., *miR-23a-5p inhibits cell proliferation and invasion in pancreatic ductal adenocarcinoma by suppressing ECM1 expression*. Am J Transl Res, 2019. **11**(5): p. 2983-2994.
98. Chen, H., W. Jia, and J. Li, *ECM1 promotes migration and invasion of hepatocellular carcinoma by inducing epithelial-mesenchymal transition*. World J Surg Oncol, 2016. **14**(1): p. 195.
99. Teklenburg, G., et al., *The molecular basis of recurrent pregnancy loss: impaired natural embryo selection*. Mol Hum Reprod, 2010. **16**(12): p. 886-95.

8. ÖZET

Başarılı bir implantasyon olabilmesi için canlı bir blastokistin reseptif bir endometriuma uygun zamanda ulaşması gerekir. Tekrarlayan implantasyon başarısızlıklarının ve tekrarlayan gebelik kayıplarının; kronik endometrit, endometrial polip gibi endometriumun patolojilerine bağlı olabileceği gösterilmiştir. Bunun yanı sıra endometrial reseptiviteye etkili olabilecek ve uterusun çeşitli hastalıklarında farklı oranda eksprese edildiği gösterilmiş birçok immünohistokimyasal marker bulunmaktadır.

Bu çalışmada tekrarlayan implantasyon başarısızlıkları ve tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalardan endometriumun reseptif döneminde alınan biyopsi materyallerinde HOXA-11, $\beta 1$ İntegrin, FAK, CD44 ve ECM1 boyanması araştırılmıştır.

Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan hastalarda endometrial FAK boyanmasında artış tespit edilmiştir. FAK artışı, hastalığın fizyopatolojisinde endometriumun bariyer fonksiyonundaki artışın rol oynadığını düşündürmüştür. CD44 ve ECM1 ekspresyonunda azalma tespit edilmiştir. Buna bağlı olarak embriyonun endometriuma tutunmasında ve vasküler invazyonda defekt olabileceği sonucuna ulaşılmıştır. HOXA-11 ekspresyonunda bir değişiklik saptanmamıştır.

Tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda $\beta 1$ İntegrin boyanmasında azalma tespit edilmiştir. Bu azalmanın RPL patofizyolojisinde rol oynadığı düşünülen süperfertilite ile ilişkili olabileceği sonucuna ulaşılmıştır. CD44 boyanmasında azalma saptanmış, bu azalmanın embriyonun vasküler invazyonunda ve plasantasyonda defekt olması ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. HOXA-11, FAK ve ECM1 ekspresyonunda değişiklik tespit edilmemiştir.

Bu çalışma tekrarlayan implantasyon başarısızlığı ve tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda, endometrial reseptivitedeki değişimlere ışık tutmuş olup bu hasta gruplarında fizyopatolojiyi anlamak adına daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı, tekrarlayan gebelik kaybı, endometrial reseptivite

9. SUMMARY

For a successful implantation, a live blastocyst must attach a receptive endometrium in the appropriate time. It has been shown that recurrent implantation failure and recurrent pregnancy loss may be due to the pathologies of the endometrium, such as chronic endometritis, endometrial polyp. In addition, several cell adhesion molecules, extracellular matrix proteins and other molecules are responsible for the successful attachment, implantation and early development of the conception and these molecules have shown to be expressed differently in receptive endometrium as well as in other uterine pathologies.

In this study, HOXA-11, $\beta 1$ Integrin, FAK, CD44 and ECM1 staining were investigated in the biopsy materials taken in the receptive period of the endometrium from patients with recurrent implantation failure and recurrent pregnancy loss.

Increased endometrial FAK staining was detected in patients with recurrent implantation failure. This increase suggested that the increase in the barrier function of the endometrium plays a role in the pathophysiology of the disease. A decrease in CD44 and ECM1 expression was detected. Accordingly, it was concluded that there may be a defect in the attachment of the embryo to the endometrium and vascular invasion. No change in the expression of HOXA-11 was detected.

In patients with recurrent pregnancy loss, a reduction in $\beta 1$ Integrin staining was detected. It was concluded that this decrease may be related to the superfertility, which is thought to play a role in the pathophysiology of RPL. A reduction in CD44 staining was detected, which was thought to be related to the defect in the vascular invasion of the embryo and placentation. No change was detected in the expression of HOXA-11, FAK and ECM1.

This study shed light on changes in endometrial receptivity in patients with recurrent implantation failure and recurrent pregnancy loss, and more studies are needed to understand physiopathology in these patient groups.

Key Words: Recurrent implantation failure, recurrent pregnancy loss, endometrial receptivity

10. ETİK KURUL ONAYI

Evrak Tarih ve Sayısı: 20/05/2019-E.63094



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Ölçme Değerlendirme Etik Alt Çalışma Grubu



Sayı : 91610558-604.01.02-
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Ahmet ERDEM
İnfertilite Üreme Endokrinolojisi Bilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Tez danışmanı olduğunuz, Üniversitemiz Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Arş.Gör.Dr. Sultan CANAN'ın, uzmanlık tez çalışması olan "*Tekrarlayan Gebelik Kayıpları Olan ve Yardımcı Üreme Teknikleri ile Tekrarlayan İmplantasyon Başarısızlıkları Olan Hastalarda Endometrial Reseptivitenin Değerlendirilmesi*" adlı çalışması ile ilgili konu Kurulumuzun 14.05.2019 tarih ve 05 sayılı toplantısında görüşülmüş olup,

Çalışmanızın, yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmadığına oy birliği ile karar verilmiş ve karara ilişkin imza listesi ekte gönderilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Mehtap ÇAKAN
Kurul Başkanı

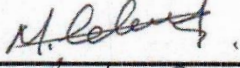
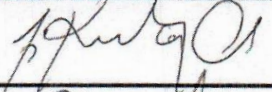
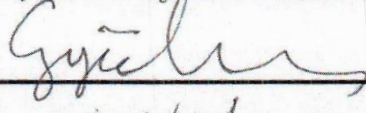
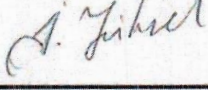
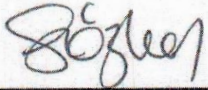
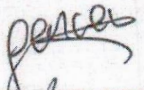
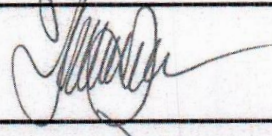
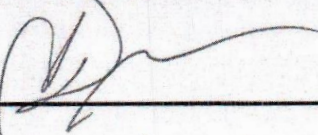
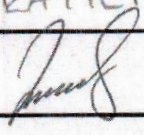
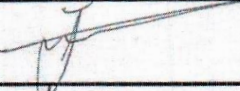
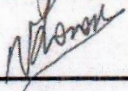
Araştırma Kod No: 2019-129

Ek: 1 Liste

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
ÖLÇME DEĞERLENDİRME ETİK ALT ÇALIŞMA GRUBU
KATILIM LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 14/05/2019

TOPLANTI SAYISI : 05

ADI-SOYADI	İMZA
Prof. Dr. Mehtap ÇAKAN Başkan	
Doç.Dr.İsmail KARAKAYA Başkan Yrd.	
Prof.Dr.Galip YÜKSEL	
Prof.Dr.İsmet YÜKSEL	
Prof.Dr.Seçil ÖZKAN	
Prof.Dr.Cevriye TEMEL GENCER	
Prof.Dr. C. Haluk BODUR	
Prof.Dr.İbrahim DOĞAN	
Prof.Dr.Aymelek GÖNENÇ	KATILAMADI
Doç.Dr.Zehra GÖÇMEN BAYKARA	
Doç.Dr.Nihan KAFA	KATILAMADI
Doç.Dr.İlyas OKUR	
Doç.Dr.Necdet KARASU	

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı: Sultan

Soyadı: Canan

Doğum Yeri ve Tarihi: Konya/1990

Eğitimi:

2008 İçel Anadolu Lisesi (Mersin)

2014 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi (Ankara)

Yabancı Dili: İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluslar

Bilimsel Etkinlikleri (aldığı burslar, ödüller, projeleri, yayınları)