

48265

T.C.
İstanbul Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı
Tıbbi Genetik Bilim Dalı
Danışman: Prof.Dr.Asım Cenani

ABORTUSLU OLGULARDA HLA DOKU GRUPLARI

(Doktora Tezi)

Dr.Şükrü Palanduz

T. 48265

İstanbul - 1995

Ö N S Ö Z

*Bu tezin her aşamasında destek ve yardımlarını gördüğüm, bilimsel çalışmalarım-
da beni yönlendiren ve destekleyen, genetik bilimini bana tanıtan ve sevdiren değerli hocalarım
Sn.Prof.Dr.Gülten Erdoğan ve Sn.Prof.Dr.Asım Cenani'ye, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı'ndaki
olanaklardan yararlanmamı temin eden ve her türlü kolaylığı sağlayan Tıbbi Biyoloji A.B.D.
Başkanı Sn.Prof.Dr.Mahmut Çarin'e, Yrd.Doç.Dr.Gülay Sönmez'e, Dr.Uğur Akar'a, verilerin
toplanması ve değerlendirilmesi aşamasında yardımlarını gördüğüm, Uz.Dr.Fatih Ziya
Boyar'a, Dr.Gökay Bozkurt'a ve Tıbbi Genetik Bilim Dalı'ndaki çalışma arkadaşlarıma, bana
huzurlu bir çalışma ortamı sağlayıp her türlü güçlükte maddi-manevi desteklerini gördüğüm
aileme ve kaymetli eşime teşekkürü borç bilirim.*

Dr.Şükrü Palanduz

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
MATERYAL VE METOD	36
BULGULAR	43
TARTIŞMA	66
SONUÇ	73
ÖZET	75
KAYNAKLAR	76

G İ R İ Ő

Genetik Danışmanlık amacıyla genetik polikliniklerine başvuran kişiler arasında; yakın akraba evlilikleri, babalık tayinleri, kalıtsal bazı hastalıkların pre ve postnatal tanısı, taşıyıcıların belirlenmesi, konjenital anomalili ve ölü doğumların yanısıra tekrarlayan düşük (abortus) olguları önemli yer tutmaktadır.

Tekrarlayan düşükler getirdiği psişik, fizik ve ekonomik güçlüklerle aileyi, etyolojiyi ortaya çıkarmadaki zorluklar ve tedavi güçlükleriyle hekimi zor durumda bırakır.

Zigot kaybının gerçek insidensi bilinmemekle birlikte serum HCG (Human Chorionic Gonadotrop Hormon) düzeylerinin belirlenmesi esasına dayalı çalışmalar sonucu fertilize ovumların daha subklinik dönemde yaklaşık % 50'sinin, klinik olarak tanımlanmış gebeliklerin de % 15-20'sinin abortusla sonuçlandığı belirlenmiştir(9,20,41).

Tekrarlayan düşük olgularının rastlantısal sıklığı % 0.3-0.4 olarak hesaplanırken gerçek sıklığın % 1 dolaylarında olduğu tahmin edilmektedir(22,93).

Abortuslu olgularda anatomik, genetik, endokrinolojik ve enfeksiyöz nedenlerin olguların ancak % 50-60 kadarında etyolojiyi açıklayabil-

diği geride kalan % 40-50'lik grupta immünolojik ve bilinmeyen nedenlerin rol oynadığı ortaya konmuştur(22,41,94).

Transplantasyon imm nolojisindeki yenilikler ve yöntemler gebeliğin seyrini ve sonucunu etkileyebilecek immünolojik bazı faktörlerin bulunmasına yol açmıştır(44).

Bu  alışmada; Tekrarlayan Spontan Abortus (TSA) nedeniyle İç Hastalıkları A.B.D. Tıbbi Genetik Bilim Dalına başvuran çiftlerde ve kontrol grubu olarak oluşturulan fertil, en az iki sağlıklı  ocuk sahibi, abortusu olmayan çiftlerde abortusa neden olan immünolojik faktörler içinde önemli yeri olduğu kabul edilen HLA (Human Leucocyte Antigen) doku grubu antijenlerinin eşler arasındaki uygunluğunun ve belli HLA antijenlerinin sıklığının abortus oluşumundaki etkinliği akrabalık ilişkileri de gözönüne alınarak irdelenmiştir.

GENEL BİLGİLER

Abortus gebelik ürününün uterus dışında yaşama potansiyeline kavuşmadan önce gebeliğin sonlanması olarak tanımlanmaktadır. Bu süre WHO (Dünya Sağlık Örgütü) tarafından 20 gebelik haftası ya da 500 gr fetal ağırlık olarak tanımlanmaktadır(87).

Yapılan araştırmalar sonucunda klinik olarak tanımlanmış gebeliklerin % 15-20'sinin spontan abortusla sonuçlandığı ve bunların büyük kısmının 1. trimesterde (gebeliğin ilk 3 ayı içinde) meydana geldiği belirlenmiştir. Tekrarlayan düşük olguları ise tüm gebeliklerin yaklaşık % 1'ini oluşturur(22,93).

Abortuslar meydana geldiği zamana, sayısına ve değişik bir takım klinik özelliklerine göre farklı isimler almaktadır(20,24,37,87).

Spontan abortus: Herhangi bir indüksiyon olmadan kendiliğinden oluşan abortustur. Sıklıkla ilk trimesterde meydana gelir ve kromozom anomalileri başta gelen etyolojik faktördür.

Abortus tehdidi: Gebeliğin ilk 20 haftası içinde meydana gelen herhangi bir kanama veya uterus krampıdır. Büyük çoğunlukla implantasyon kanaması sonucu meydana gelir.

Missed abortus: Fetüs ölmüş ve 4 hafta ya da daha uzun süre uterus içinde kalmışsa kaybedilmiş (missed) abortustan söz edilir.

Septik abortus: Uterus içeriğinin enfekte olmasına denir.

Primer abortus: Hiç canlı doğum yapmamış kadınlarda görülen abortustur.

Sekonder abortus: En az 1 canlı doğum yapmış kadınlarda görülen abortustur.

Tekrarlayan spontan abortus: Herhangi bir müdahale olmadan, ardışık 2 veya daha fazla abortusun olmasıdır. Primer tekrarlayan spontan abortus (P.T.S.A) ve sekonder tekrarlayan spontan abortus (S.T.S.A) olmak üzere 2 grupta incelenir.

ABORTUSLARDA ETYOLOJİK NEDENLER

- I- Genetik nedenler
- II- Anatomik nedenler
- III- Endokrinolojik nedenler
- IV- Enfeksiyöz nedenler
- V- Multifaktöriyel ve bilinmeyen nedenler
- VI- İmmünolojik nedenler

I. GENETİK NEDENLER

Tek gen defektleri ve poligenik multifaktöriyel kondisyonlar konjenital anomalilere, sendromlara, bazı metabolik hastalıklara yol açabilir. Kromozomlarla ilgili sayısal ve yapısal kusurlar ise bahsedilen durumlar dışında abortuslara da neden olabilirler(26,42,63,87,94). Kromozomal sayı kusurları içinde en sık görüleni anöploididir(20,26). Mayoz bölünme sırasındaki nondisjunction sonucu meydana gelir ve 1.trimestr spontan abortuslarına neden olur. Kromozomal yapı kusurları ise spontan olarak meydana

gelebildiği gibi iyonizan ışınlar, kimyasal maddeler, viral infeksiyonlar sonucunda da meydana gelebilirler. Daha çok ilk trimester spontan abortuslarına neden olurlar.

Yapısal kusurlar dengeli veya dengesiz biçimde gerçekleşebilir. Dengeli yapısal kromozom kusurları, inversiyon, translokasyon ve insersiyonlardır.

Dengesiz yapısal kromozom kusurları, delesyon, duplikasyon, ring kromozom, izokromozom, disentrik kromozomdur(34,99).

Bahsedilenler dışında uzun Y kromozomunun abortus riskini arttırdığı(74), 1. ve 9. kromozomların heterokromatin bölgelerinin (+) oluşunun abortusla ilişkili olduğu iddia edilmektedir(40,47).

II- ANATOMİK NEDENLER

Abortus'a neden olabilen anatomik nedenler(22,68) 1- Serviks yetersizliği, 2- Konjenital ve edinsel uterus anomalileridir.

- 1- Serviks yetersizliği (servikal inkompetans): İnternal ostium yetersizliği nedeniyle serviksin ağrısız dilatasyonudur. Genellikle 2. trimestr abortuslarına neden olur.
- 2- A- Konjenital uterus anomalileri(37,94)
 - a) Müller kanalı füzyon anomalileri
 - b) İn utero dietilstilbestrol (DES) ile ilişkili uterus anomalileri
 - c) Arteria uterina anomalileri
 - d) Uterus retroversiyonu
- B- Edinsel uterus anomalileri
 - a) İntrauterin yapışıklıklar(86)
 - b) Uterusun benign veya malign tümörleri

III. ENDOKRİNOLOJİK VE METABOLİK NEDENLER(94)

Gebelik ürününün implantasyonu, embriyonun gelişmesi ve gebeliğin devamı hormonların uterus ve overler üzerindeki kompleks etkilerine bağlıdır(68). İki veya daha fazla ilk trimestr abortusu olan kadınlarda bir hormonal bozukluk akla getirilmelidir. En sık rastlanan hormonal neden luteal faz defektidir. Ayrıca hipotiroidi, hipertiroidi, diabetes mellitus abortus nedeni olabilecek diğer hormonal nedenlerdir. Annenin kollagen vasküler hastalıkları da (Ör. Sistemik Lupus Eritematozus) abortusa neden olabilmektedir.

Luteal faz defekti: Anormal over fonksiyonuna bağlı olarak gelişen yetersiz progesteron üretimi sonucu endometriumun iyi gelişmemesidir. Corpus luteum progesteron üreterek endometriumu implantasyona hazırlar, ayrıca corpus luteumun endometrial lökositlerden interlökin 2 sekresyonunu stimüle ederek fetüsün yabancı bir doku olarak tanınmasını engellediği ileri sürülmektedir(67). Gebeliğin erken dönemlerinde trofoblast devreye girinceye kadar corpus luteumun desteği gereklidir. Gebelik ürününün 6 günlük iken HCG ürettiği tespit edilmesine rağmen genelde 7 haftalık gebelikte trofoblastın devreye girdiği ve corpus luteum fonksiyo-

nunun 10. gebelik haftasına kadar devam ettiği belirlenmiştir(68). Hiperprolaktinemi, ovulasyon indüksiyonu, sürrenal kaynaklı hiperandrojenizm gibi nedenlerle corpus luteum fonksiyonu bozulduğunda tuba ve uterus motilitesi olumsuz yönde etkilenerek nidasyon zorlaşır, abortus meydana gelir.

IV. ENFEKSİYÖZ NEDENLER

Tekrarlayan abortuslarda enfeksiyöz faktörlerin rolü halen tartışmalıdır. Bir enfeksiyöz etkenin tekrarlayan düşüklere sebep olması ancak rekürren enfeksiyonlar yapabilmesine veya kronik olarak persiste etmesine bağlıdır(21,105). Bu etki gebelik öncesinde, sırasında veya doğum esnasında olabilir.

Enfeksiyöz ajanların etkisine bağlı olarak konjenital anomalili bebekler de doğabilir. Halen yenileri eklenmekle birlikte düşük ve konjenital anomali nedeni olabilen enfeksiyöz ajanlar TORCH adı altında toplanmaktadır(5,66). Tablo A'da bu etmenler görülmektedir. Bu liste intrauterin enfeksiyon etkenlerinin tümünü kapsamamaktadır. 1982 yılında bulunan AIDS etkeni *HIV-1 ve HIV-2*, kenelerden geçen Lyme hastalığı etkeni *Borrelia*, *Parvovirüsler*, Condyloma accuminataya yol açan *Human Papilloma virüsü*, Hepatit virüsleri fetal ve neonatal etkileri olan ve araştırılması gereken ajanlardır(17).

Tablo A : TORCH Etmenleri

- T Toksoplazma
- O "Other infectious microorganisms"
(Diğer enfeksiyöz mikroorganizmalar)
Varisella, Kızamık, Boğmaca, Coxsackie-B, Hepatitis-B
HIV-1 ve HIV-2 (AIDS), Lenfositeryomeningit,
Parvovirüs, Papillomavirüs, Treponema pallidum,
Listerya, Gonokok, Klamidya, Borrelia, Sıtma, B grubu streptokok
- R Rubella
- C Sitomegalovirüs
- H Herpes simpleks virüs

V- MULTİFAKTÖRİYEL VE BİLİNMEYEN NEDENLER

Abortusa neden olduğu düşünölen diğer muhtelif nedenler arasında yüksek doz radyasyon, psikolojik nedenler, bazı kimyasal ve fiziksel maddeler sayılabilir.

Mevcut tanı yöntemleri ile immünolojik faktörler de araştırıldığı halde abortusların % 10-15'inde neden saptanamamaktadır(9,68).

VI- İMMÜNOLOJİK NEDENLER

Tekrarlayan abortus olgularında rutin etyoloji arama yöntemleriyle olguların ancak % 50-60'ında neden saptanabilmesi araştırmacıları başka etyolojik faktörler aramaya yöneltmiş ve bu çalışmaların sonucunda immünolojik bazı nedenler bulunmuştur(22,37,41,48). Bu nedenler etki mekanizmaları ve tedavi yönünden 2'ye ayrılır.

A- Otoimmün nedenler

B- Alloimmün nedenler

A. OTOİMMÜN NEDENLER

Tekrarlayan abortus olgularında belirli bir hastalığın eşliğinde veya yalnız olarak otoimmün faktörlerin rol oynadığı tespit edilmiştir(22,30,33,48,93). SLE (Sistemik Lupus Eritematozus) gibi otoimmün hastalıklarda abortusa sık rastlanmaktadır(18).

Antifosfolipid antikorları; tekrarlayan abortus nedeni olan, anyonik fosfolipidlere karşı gelişen ve onlara bağlanan antikorlardır ve 3 tipi vardır(7,18).

- 1- Yanlış pozitif serolojik sifiliz testine neden olan antikor
- 2- Lupus Antikoagölünü (LAC)
- 3- Antikordiölin Antikoru (ACA)

Lupus Antikoagülanı (LAC): Kanama ve tromboemboliye neden olabilen bir antifosfolipid antikorudur. LAC (+) olan hastalarda % 40-50 arasında SLE'a rastlanmaktadır(18). LAC (+) gebelerde 2. trimestr düşükleri sık görülmektedir.

Antikordioliğin antikorunu (A.C.A): LAC ve ACA'nın birbirleriyle ilişkili subgruplar olduğu iddia edilmekte, tekrarlayan düşüklerde ACA'nın IgG izotipi pozitif bulunmaktadır. LAC ve muhtemelen ACA'nın fetusa immünolojik etkiden çok tromboz eğilimine bağlı desidual veya plasental yetersizlik oluşturarak abortusa neden oldukları düşünülmektedir(7,18,39).

B. ALLOİMMÜN NEDENLER

İmmün sistem kişiyi kendisine ait olmayan dokudan korumak için gelişmiş kompleks integre bir sistemdir.

İmmün sistemin işleyişinde immünglobulin adı verilen gamaglobulin yapısında antijene özgü antikorların rol oynadığı *hümorale immünite* ve T lenfositleri ile onların solubl ürünleri olan lenfokinlerle ilişkili *hücre sel immünite* rol oynar(12,32,36). Nötrofiller, makrofajlar ve kompleman sisteminin de bu işleyişte rolü vardır(12).

Fetal antijenlerin % 50'si paternal kaynaklı olduğu halde normal şartlarda bir rejeksiyon olmaz, bu nedenle fetüsün immünolojik olarak tolere edilmiş bir allograft olduğu kabul edilmektedir(9,15,30,37).

Gebelik ve abortus üzerine etkili alloimmün nedenleri şu başlıklar altında toplamak mümkündür:

- 1- Blokan faktör
- 2- Antipaternal lenfositotoksik antikorlar (APSA)
- 3- Antisperm antikorları
- 4- Rh immünizasyonu

- 5- TLX antijenleri (Trofoblast lenfosit kros reaktif antijen)
- 6- Diğer alloimmün faktörler
- 7- HLA (Human Leucocyte Antigen) sistemi

1- Blokan Faktör (Antikor) (BF)

Gebeliğin devamı için gerekli görülen bir faktördür. Gebeliğin ilk trimestrinde ortaya çıkmaya başlar ve giderek titresi artar. Blokan faktör sağlıklı gebeliklerde bulunur, primer tekrarlayan abortuslu olgularda ise bulunmaz(22,33).

Başarılı bir gebelik için trofoblastların annenin immün sistemi tarafından tanınması gerekmektedir(48,49,60). Bu tanınma sonucunda koruyucu veya blokan faktörün (BF) sentezi gerçekleşir. İmmünolojik kökenli abortuslarda lökosit immünizasyonu tedavisi ile blokan faktör oluşturularak abortus önlenmektedir(88). Eşler arasında HLA uyumu olduğunda Blokan faktör oluşmamakta ve fetüs immünolojik olarak reddedilmektedir(49,85,93).

Blokan faktörün etki mekanizmaları konusunda çeşitli teoriler ileri sürülmektedir(41,48,95).

- a) Anne lenfositlerine bağlanarak anne hücrelerinin fetal antijenlerle etkileşimini bloke edebilir.
- b) Feto-plasental trofoblastik antijenlere bağlanarak onların anne tarafından tanınmasını engelleyebilir.
- c) Blokan antikor anne antikorları üzerindeki antijenik bölgelere bağlanarak maternal lenfositlerin fetal antijenleri bağlamasını engelleyen antiidiotipik antikor olabilir.

2- Antipaternal Lenfositotoksik Antikor (APSA)

Normal gebelik sırasında kadınlarda eşinin Klas I HLA antijenlerine karşı IgG tabiatında antikorlar gelişebilmektedir. Yüksek titrede APSA'lar primer abortuslarda görülmemekte, sekonder abortuslularda görülmektedir.

İmmünizasyon yoluyla tedavide bu antikorların oluşumu başarı olarak kabul edilmektedir(24,48,53,95).

3- Antisperm antikoru

Anne ve babada serum, vajinal sekresyon ve semende tespit edilen ve abortusa neden olabilen antikorlardır(94).

4- Rh immünizasyonu: CDE allellerini içeren Rh grup antijenlerini taşıyan fetal eritrositlere karşı Rh (-) annede gelişen antikorlardır. Eritroblastozis fetalise neden olurlar.

5- Diğer alloimmün faktörler: Bu grupta fetüsün immünolojik olarak tolere edilen bir allograft olarak kabul edilmesinde rol oynayan faktörler yer almaktadır.

- 1. Trimestr desiduasındaki T lenfositlerinin interlökin için yüksek afinite reseptörleri içermedikleri ve bu aktiviteyi bloke eden faktörler içerdikleri tespit edilmiştir. Bu gebeliğin sürdürülmesinde koruyucu bir faktör olarak rol oynamaktadır(22).
- Gebelik sırasında kemik iliği kaynaklı süpressör hücreler hormonal ve trofoblastik faktörlerle endometriuma yönlendirilmektedir(33).
- GM-CSF (Granülosit Makrofaj Stimüle Edici Faktör) olarak adlandırılan bir T lenfosit ürününün trofoblast hücrelerinin proliferasyonunu arttırdığı gözlenmiş ve immünosüpresyondan ziyade immünostimülasyonun gebeliğin devamı için gerekli

olduğu ileri sürülmüştür(41). "İmmünotropizm hipotezi". EGL (Endometrial granüle lenfositler), onların ürettiği solubl faktörler ve sitokinlerin de bu mekanizmada rolü vardır(41,85,98).

- Prolaktin, alfa fetoprotein, plasental uteroglobulin gibi immün supresyonda rol oynayan immünomodülan faktörlerin sekresyonunu progesteron tarafından indüklenmekte ve gebeliğin sürdürülmesinde rol oynamaktadır(67).

6- TLX Antijenleri: (Trofoblast lenfosit kros reaktif antijen)

Anne ve fetüs arasındaki temas trofoblastlar aracılığıyla olmaktadır. Plasentanın yüzeyel kısmında yer alanlara sinsisyotrofoblast, derinde olanlara sitotrofoblast adı verilir.

Trofoblast maternal immün tanıma ve red olayında önemli rol oynar. Onun yapısı, sekresyonları ve desidua ile etkileşimleri blastosistin implantasyonu ve büyümesi açısından önemlidir. Trofoblastlarda immün yanıtla ilgili olarak trofoblast associated antijenlerin bulunduğu bulgular vardır(15).

Mc Intyre ve Faulk TLX loküsünün 6. kromozom üzerinde HLA-DR loküsüne yakın bir bölgede yer aldığını belirtmişlerdir(70,71). Sitotrofoblastların Klas I HLA moleküllerini taşıdıkları belirlenmiştir.

Trofoblast membranının izolasyonundan sonra yapılan incelemelerde trofoblastın 2 grup antijen taşıdığı saptanmıştır.

1. grup antijen TA1 (Onko ekstra embriyonik antijen) olarak isimlendirilmiştir ve sadece trofoblastlar üzerinde bulunur.

2. grup antijen TA2'dir. TA2'ye karşı geliştirilen Anti TA2 antikorunun lenfosite karşı sitotoksik olduğu belirlenmiş, lenfosit ile trofob-

last arasında çapraz reaksiyon sağladığı için bu antijene TLX antijen adı verilmiştir(71). TLX antijeninin yapısı incelendiğinde HLA antijenleri ile benzer yapıda olduğu görülmüştür .Sadece klasik HLA molekülünden farklı olarak Beta -2-mikroglobulin içermemektedirler. Bu yapı HLA-G olarak isimlendirilmektedir(16). TLX antijenlerinin trofoblast ve lenfosit dışında trombositlerde, erkek seminal plazmasında da bulunduğu gösterilmiştir(1,58).

TLX antijeninin 3 allotipi tespit edilmiştir (TLX 1,2,3).

Gebelik sırasında paternal TLX antijenlerinin anne tarafından tanınması TA1'in (onko extra embriyonik antijen) tanınmasını bloke eden, anti TLX antikörlerinin meydana gelmesini sağlar. Anti TLX antikörleri hem sitotoksik antikörleri hem de B-lenfositlerini inhibe ederek toleranslı bir gebeliğin meydana gelmesini sağlar. Yani anti TLX antikörlerinin oluşumu gebeliğin devamı için gereklidir.

Normal doğumları olan bir çiftte anne TLX 1,2, baba TLX 1,3, allotiplerini taşıdığında anne ve babadan TLX allotiplerini Mendel kurallarına göre alacak olan embriyoya (Blastosist) babadan annede olmayan TLX allotipi (TLX 3) geçer. Bu paternal TLX antijeni annenin immün sistemi tarafından farkedilir. Anti TLX cevabı oluşturulur. Anti TLX antikörleri ya B lenfositlerini uyararak blokan antikör oluşumunu sağlar, ya da süpresör T hücrelerinin aktive olmasına yol açarak gebeliğin devamını sağlar.

Blokan antikör TA1 (onko ekstraembriyonik antijen)'in tanınmasını ve sitotoksik T lenfositlerinin fetusu ve plasentayı tahrip etmesini önler, gebelik devam eder.

Süpresör T hücreleri ise paternal antijenlere karşı yönlendirilmiş sitotoksik T jenerasyonunu inhibe eder. Bunu interlökin-2 ile Sitotoksik T lenfositin cevabını bloke eden solübl süpresör faktörlerini serbestleştirerek yapar.

Blastosist, babasından annesinde olan bir TLX allotipini alırsa annenin immün sistemi bunu farkedemez, koruyucu Anti-TLX oluşturulmaz, TA1 fark edilip sitotoksik T lenfositleri ve antikorlar fetusu ve plasentayı tahrip eder ve gebelik abortusla sonuçlanır şeklinde bir mekanizma düşünülmektedir(48,69,71). Özellikle primer abortuslu kadınlarda eşler arasında HLA ve TLX ortaklığı olduğu için koruyucu cevap oluşmamakta ve abortus meydana gelmektedir(48).

HLA-TLX allelleri arasında bir bağlantı dengesizliği olduğu (linkage disequilibrium) bu nedenle tekrarlayan abortusları olan ailelerde eşler arasında HLA antijenleri ve TLX antijenleri arasında uygunluğun birlikte olduğu iddia edilmektedir(70,71).

Tedavi amacıyla kullanılan Anti HLA immünizasyonu anti-TLX immünizasyonunu da doğurmaktadır. Anti HLA antikorları normal gebeliklerde sık görülmekte, tekrarlayan düşüklerde görülmemektedir(72).

*PTSA'lar ve **STSA'larda TLX antijenleri ile ilgili işleyişin farklı olduğu belirtilmektedir.

Normal şartlarda TLX antijeni ortamda belirildiğinde buna karşı TLX antikoru ve bu antikoron antijenik determinantına (idiotip) karşı anti-idiotipik antikorlar yapılmakta; İdiotip-Antidiotip hem hümmoral, hem hümmoresel immün yanıtı kontrol etmektedir(71).

PTSA'lu kadınlarda Anti TLX oluşmadığından immün cevap kontrol altına alınamamaktadır. S.T.S.A.'lu kadınlarda ise TLX'e karşı Anti TLX oluşmakta fakat antiidiotip yeterli oluşmamakta ve dengesiz bir immün ağ oluşmaktadır.

Normal bir kadının TLX antijenlerine karşı antikorlar geliştirdiği fakat maternal antiidiotip tarafından bloke edildiği için belirlenmesinin zor olduğu belirtilmektedir(71).

*Primer tekrarlayan spontan abortus

**Sekonder tekrarlayan spontan abortus

Tekrarlayan spontan abortusların immünizasyon yoluyla tedavisi

Böbrek transplantasyonunda verici kanının alıcıya transfüze edilmesi ile muhtemelen antiidiotipik antikor oluşumu sonucu transplant canlılığında artış olması(44) yetersiz maternal immün cevaba bağlı tekrarlayan abortusları olan eşlerde paternal veya 3. kişiye ait lenfosit veya kanın kadına tranfüzyonu fikrini doğurmuş ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir(13,23,24,48,69,85).

Yabancı lenfositlerin etki mekanizması olarak blastosist ile annenin benzer TLX profili taşıdığı PTSA'lu olgularda farklı TLX taşıyan lenfositlerin kadına verilmesi ile koruyucu immün cevabın (blokan faktör oluşumu) oluştuğu belirtilmektedir(49,81,95). Ayrıca eşinin HLA'sı ile iletilen paternal antijenlere karşı maternal antipaternal nonsitotoksik antikorların oluşumu da etyolojik bir etki mekanizması olarak ileri sürülmektedir(53,55). İmmünizasyon sitotoksik T hücrelerinde düşüş ve süpressör T hücrelerinin oranında artış sağlamaktadır(95).

Bu tedavinin yapılabilmesi için eşler arasında HLA antijenlerinin uygun olması, antipaternal lenfositotoksik antikorların bulunmaması ve MLC (Mikst Lenfosit Kültürü) ile ölçülen blokan faktörün olmaması gerekmektedir. Sayılan özellikler PTSA'lı olgularda bulunmaktadır. STSA'lu olgularda eşler arasında HLA antijen uygunluğu PTSA'lu olgular kadar olmamakta ve STSA'lu kadınların Antipaternal lenfositotoksik antikorlar (Anti HLA antikorları) içerdikleri görülmektedir.

STSA'lu kadınlardan elde edilen sitotoksik antikorları kullanarak yeni bir lenfosit serotiplemesi yapılmış ve PTSA'lu olgularda kullanılarak başarılı sonuç elde edilmiştir(46).

Lökosit transfüzyonu ile başlayan immünoterapi (13, 16, 23, 35) ardından çeşitli immünoterapi metodları devreye sokulmuştur. İntradermal lökosit uygulaması en yaygın olanıdır. Ayrıca TLX içeren seminal plazmanın kullanımı(1), trofoblast membran infüzyonu(56) bildirilmiştir. Her iki

preparatın nükleer materyal taşınamaması, çeşitli testlerin yapılması için saklanabilmesi üstünlükleridir.

Blokan faktör içerdiği için etki gösterdiği düşünülen ve geniş bir donör havuzundan elde edilen immünglobulinlerin intravenöz kullanımı (IVIG) ile passif immünizasyon yapılarak başarılı sonuçlar alındığı belirtilmektedir(85,93).

Lökosit transfüzyonunu takiben plazmada HCG değerlendirilmesinden sonra progesteron takviyesi tavsiye edilmektedir(81).

İmmünoterapi sonrası yapılan flow sitometrik bir çalışmada Anti-idiotipik antikorların ve MLC blokan antikorların indüklendiği ve sitotoksik T hücrelerinin oranının düştüğü saptanmıştır(95).

İmmünoterapinin başarısına ilişkin zıt görüşler olduğu gibi(61), bu tedavi şeklinin bazı riskleri içerdiği iddia edilmektedir(37,69).

- Anneye ait riskler:
- Allerjik anafilaktik reaksiyonların olması
 - HLA'ya karşı immünizasyon
 - Enfeksiyon geçişi
 - Lenfositotoksik antikor oluşumu nedeniyle sonradan yapılacak bir transplantın reddedilebilmesi
 - Gizli bir otoimmün hastalıkta alevlenme
- Bebeğe ait riskler:
- Rh uyumsuzluğu olanlarda izoimmünizasyon
 - CMV (sitomegalovirüs) enfeksiyonu geçişi
 - Graft versus host reaksiyonu
 - Anomali ihtimalinde artış
 - İntrauterin gelişme geriliği

7- HLA (Human Leucocyte Antigen) Sistemi

HLA ile ilgili ilk bilgiler, 30 yıl kadar önce birden fazla kaynaktan transfüzyon yapılmış hastaların veya çok doğum yapmış kadınların serumlarında donörlerin lökositlerini agglütine edemediği halde diğer bazı şahısların lökositlerini agglütine eden antikorların bulunmasıyla elde edilmiştir(8,12).

HLA antijenlerinin Dausset tarafından tanımlanmasından sonra bu antijenlerin sadece lökositlerde değil diğer doku hücrelerinde de bulunduğu anlaşılmış ve bu antijenlere "Histokompatibilite (Doku uygunluğu) Antijenleri" veya "Transplantasyon Antijenleri" adı verilmiştir(32,36,96).

MHC (Major Histokompatibilite kompleksi) sistemi insanda HLA sistemi olarak isimlendirilir. İmmünolojik cevaplar MHC (veya HLA) kompleksi tarafından regüle edilir. Alloreaktif hümoral ve hücre sel immün cevap HLA antijenlerine yöneliktir(25,34,36,92,99).

Genetik Yapı: HLA molekülü immünglobulin süpergen ailesinin bir üyesidir. İmmünglobülinler ve T hücre reseptörleri gibi aynı ortak genden gelmiştir(92). HLA antijenlerine Histoglobulinler de denmektedir. HLA antijenleri, HLA gen lokusu tarafından kontrol edilir. Gerçekte bu antijenler tek bir lokustan ziyade bir kromozom bölgesi tarafından tayin edilirler; bu bölgeye MHC kompleksi (veya HLA kompleksi) denir. İnsanda HLA kompleksi 6. kromozomun kısa kolunda yer alır (6P21.3)

HLA moleküllerinin yapısı

HLA molekülleri ve bunları kodlayan genler 3 kategoriye ayrılır

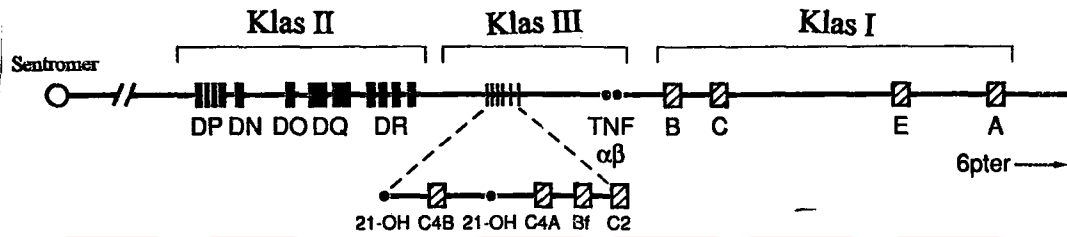
I- Klas I HLA molekülleri

II- Klas II HLA molekülleri

II- Klas III HLA molekülleri

Klas I ve II HLA molekülleri yapıları, doku dağılımı ve fonksiyonları bakımından birbirlerinden ayrılırlar.

Klas III molekülleri C₂, C₄, properdin, Faktör B, TNF, lenfotoksin ve 21-hidroksilazdır. Hepsi solubl maddeler olup transplantasyon antijeni olarak fonksiyon görmezler(92).



Literatür 99 sayfa 337'den alınmıştır.

Şekil 1: Klas I, II, III moleküllerinin 6. kromozom üzerinde yerleşimi

HLA sisteminde önce A ve B sistemi kabul edilmiş, 1975'de serolojik yöntemlerle tanımlanan C sistemi ve mikst lenfosit kültürü ile tanımlanan D sistemi (Klas II antijenleri), 1977'de DR Sistemi (D Related) serolojik olarak tanımlanmıştır(12). HLA sisteminde kesin tanımlanan antijenler yanında üzerinde çalışılan antijenler de vardır. Bunlar W (Workshop) ile gösterilmektedir.

6.kromozom üzerinde Klas I, II, III moleküllerinin loküsleri bulunur. Her loküste özel karakterleri temsil eden alternatif genlerden biri (allel) yer alır. HLA Sistemi polimorfik bir sistemdir. (Her allelde birden fazla gen bulunur). Bu loküslerde HLA-A (23 Allelli), HLA-B (49 Allelli), HLA-C (8 Allelli) → Klas I HLA antijenleri; HLA-DQ (3 Allelli), HLA-DP (6 Allelli), HLA-D (15 allelli), HLA DR (16 Allelli) → Klas II HLA antijenleri yer alırlar. Moleküler biyolojik çalışmalar HLA genlerinin özelliklerinin kapsamlı bir şekilde ortaya çıkmasını sağlamıştır. Bu çalışmalar sırasında HLA genleri ile yüksek sequence homolojisi gösteren fakat gen ekspresyonunda defektif olduğu kabul edilen pek çok komşu DNA sequenci de ortaya çıkmıştır. Bunlara pseudogenler denmektedir(96).

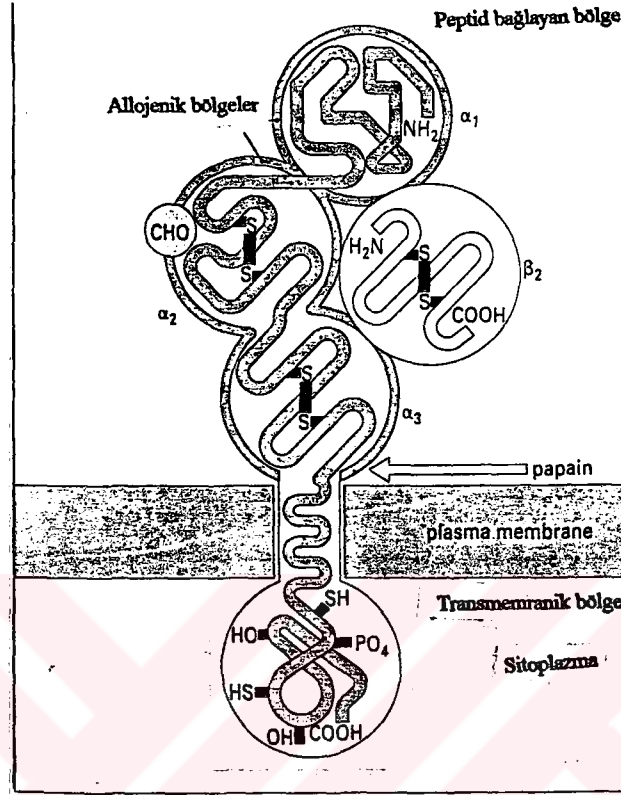
Biyokimyasal konfigürasyonlarına ve fonksiyonlarına göre HLA antijenleri 3 tipe ayrılmaktadır.

Klas I HLA molekülleri: HLA-A, B, C molekülleri Klas I HLA moleküllerini oluşturur. Bu moleküller çekirdekli hücrelerin çoğunluğunda, trombositlerde, retikülositlerde ve plazmada erimiş halde bulunurlar. HLA-A,B,C lokus genleri tarafından şifrelenirler. Bu antijenlerin saptanmasında serolojik yöntemler kullanıldığından bunlara SD Antijenler (Sero-logically Defined) de denir. Transplante edilen bütün organlarda örneğin, kalp, karaciğer, böbrek ve pankreasta tespit edilmiştir(12,36,92).

Klas I HLA moleküllerinin yapısı: HLA-A,B,C moleküllerinin her biri hücre yüzeyinde plazma zarına batık durumda iki polipeptid zincirinden yapılmıştır. Ağır olan α zinciridir. Moleküler ağırlığı 43.000 daltondur ve glikoprotein yapısında polimorfik bir maddedir. 6. kromozomda kodlanır. Zincir α_1 , α_2 , α_3 olarak 3'e ayrılmıştır ve üçü membran dışındadır. Disülfid bağları ile birbirine bağlanmış 2 kangala sahiptir. Kangalı oluşturan amino asitlerin yapıları antijenik özelliği oluşturur. Hafif olan zincir β zinciridir. Molekül ağırlığı 12.000 daltondur. 15. kromozomda kodlanır.

Polimorfik yapıda olmayan bir β eta-2 mikroglobulindir. Bu madde ağır zincire kovalent olmayan bir bağ ile bağlıdır. Bu zincir antikor molekülünde görülen kangallara benzer yapıdadır. β eta-2 mikroglobulin ile immünglobulin ağır zincirinin üçüncü değişmez bölgesinin amino asit dizisi ile molekülün bazı parçaları birbirine çok benzer. β eta-2 mikroglobulin doku naklinde reddi haber veren bir parametre olarak dikkati çeker(12).

Şekil 2'de Klas I HLA molekülünün yapısı şematik olarak görülmektedir. HLA'nın antijenik determinantlarının çoğu α_1 , α_2 bölgelerinde bulunmaktadır.



Literatür 98 sayfa 342 den alınmıştır.

Şekil 2: Klas I HLA molekülünün yapısı

Klas I HLA moleküllerinin fonksiyonları: Fizyolojik rollerine uygun olarak, Klas I HLA molekülleri tüm çekirdekli hücrelerde mevcuttur. CD8 (+) T lenfositlerin antijeni tanıyabilmesi için antijenin Klas I HLA molekülü ile birleşmiş olması gerekir. Buna HLA restriksiyonu denir. Virus hücre içine girdiği zaman peptid fragmanlarına katabolize olur. Buna antijen processing denir. Klas I HLA molekülüne bağlanır ve CD8 sitotoksik T hücrelerine sunulur. Sitotoksik T hücresi ancak belirli bir viral peptidi tanır. Tanınma sonrası T hücresi viral antijen taşıyan hücreyi öldürür. Transplantasyonda vericinin Klas I molekülleri alıcının CD8 T lenfositleri tarafından tanınır(32).

Klas II HLA molekülleri: HLA-D, HLA DR (D-related) molekülleri Klas II HLA moleküllerini oluşturur. D'ler, DP, DQ ve son zamanlarda DO ve DN (eski adı D₂) olarak gruplara ayrılmaktadır(12).

HLA D grubu antijenler B lenfositlerde, makrofajlarda, dentritik hücrelerde, Langerhans hücrelerinde ve damar endotel hücrelerinde bulunmaktadır. D ve DR antijenlerinin bulunduğu hücre sayısının az oluşu DR antijen tayinini zorlaştırmaktadır. DR antijenleri serolojik olarak ilk defa 1973 yılında tayin edilmiştir. 1,2,3,4,7 gibi antijenlerin bir kısmının tanımlanması nispeten kolaydır. Diğerlerinin ise tanımlanması zordur. Örneğin DRW6'nın monospesifik antiserumu yoktur. HLA DR antiserumları çoğunlukla HLA-A ve B'ye karşıda antikorlar içermektedir. Hücrelerin ise DR antijenlerince zengin olması gerekmektedir. HLA DR haplotipinde DR lokusuna çok yakın bir bölgede HLA-D lokusu bulunmaktadır. Varlığı ancak aktivitesinden dolayı fark edilir. Genin ürünü bilinmemekle beraber moleküler yöntemlerle izole edilebilmekte; fakat serolojik yöntemlerle tespit edilememektedir. D lokusunun özellikleri B lenfositlerin yüzey antijenleriyle ifade edilmektedir.

Testlerde antijen kaynağı olarak kullanılan B lenfositlerinin eldesi (saflaştırılması) değişik yöntemlerle yapılabilmektedir (Rozet testi, Naylor wool vb). Monoklonal antikorlarla yapılan B lenfosit izolasyonu daha kısa sürede yapılabilmekte ve daha güvenilir sonuç vermektedir(92).

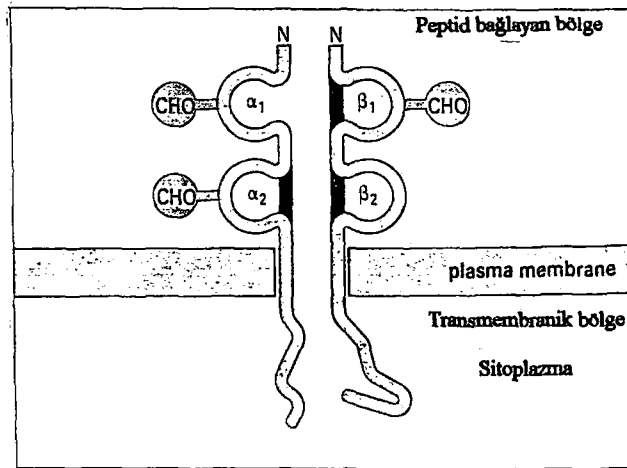
Bu antijenlerin görevi allojenik T lenfositleri stimüle etmektir. Bu stimülasyon T lenfositlerde meydana gelen blastogenez ile takip edilebilir; bu işlem MLC (Mikst lenfosit kültürü) ile yapılır. Lenfositler üzerindeki bu etkileri nedeniyle D antijenlerine LAD (lenfosit aktive eden) antijenler denir. MLC özel bir antijenik stimülasyon durumudur. T lenfositlerin farklı hücrelerdeki yabancı doku uygunluk antijenlerine (Klas II) cevabı araştırılır. İki farklı HLA yapısına sahip kişilerin lenfositleri doku kültüründe birararaya getirildiğinde hücreler şişer. DNA sentez eder ve proliferer olur. MLC (+)'dır. Ancak HLA idantik kişilerde proliferasyon olmaz. Proliferasyon için iki hücrenin Klas II HLA antijenlerinin farkı olması gerekir. MLC testinin temelinde Klas II antijenlerinin lenfosit aktive edici determinantlar olarak belirlenmesi yatmaktadır(12).

HLA-A ve HLA-D geni arasında 180 genlik bir uzaklık olduğu düşünülmektedir. HLA-D ile ilgili bilinen bu lokuslar dışında birkaç lokus

daha olduğu, bunların HLA bölgesi yakınında yer aldığı ve minör doku uyuşması ile ilgili bölgeler olduğu zannedilmektedir. Çünkü HLA özdeş kişiler bile birbirlerinden gelen deri greftlerini geç dönemlerde reddedebilmektedir. Bağışık yanıtla ilgili genlerin D lokusunun daha arkasında IR (İmmün Response) bölgesinde olduğu sanılmaktadır. IR genleri organizmanın yabancı bir antijene immün cevap verme yeteneğini belirleyen genlerdir. Klas II moleküllerinin IR genlerine aracılık ettiği hatta Klas II moleküllerinin IR genlerinin ürünü olduğunu ileri süren araştırmacılar vardır. Bu bölgede doku uyuşması genlerinden başka bazı kan grubu antijenleri, bazı kompleman tipleri de yer almaktadır. IR genlerinin T hücre fonksiyonlarını etkilediği gibi B lenfosit yüzeyinde bulunan IA (Immun Associated Antijen) adı verilen bir glikoproteini de şifrelediği sanılmaktadır(12,32).

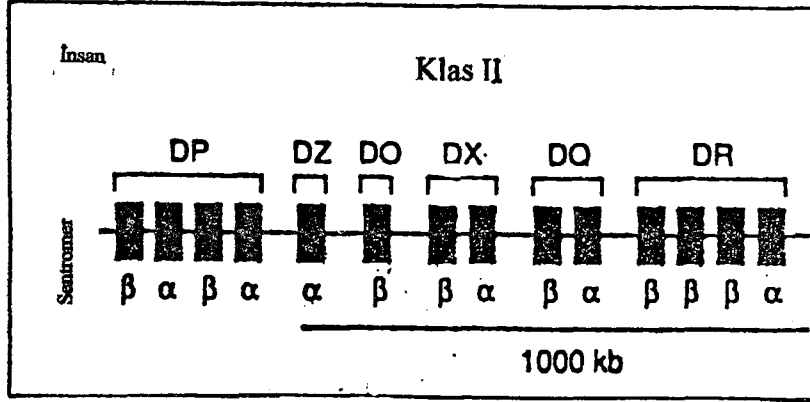
Klas II HLA moleküllerinin yapısı : HLA-D ve DR moleküllerinin her biri hücre yüzeyinde görülen ve nonkovalent bağlarla bağlanmış iki polipeptid zincirinden oluşur. Her iki zincir MHC içinde kodlanmıştır.

Uzun olan zincir alfa zinciri (alfa 1 ve alfa 2 olmak üzere 2 domainden oluşmuştur) kısa olan zincir Beta zinciridir (0 da Beta 1 ve Beta 2 domainlerinden oluşur). Alfa zinciri 33.000 Dalton molekül ağırlığında, Beta zinciri 28.000 dalton molekül ağırlığındadır. Heterodimer yapısında glikoproteinlerdir. Klas I'de membran içine sadece alfa zinciri girmekte iken Klas II'de iki zincir birden membran içine girmektedir(12,92).



Şekil 3 : Klas II HLA molekülünün yapısı

Literatür 99 sayfa 342'den alınmıştır.



Literatür 91 sayfa 1484'den alınmıştır.

Şekil 4 : Klas II HLA molekülünün 6. kromozom üzerindeki yerleşimi

HLA-DR, DP ve DQ'nun yapısı birbirinin aynıdır. Her bir zincir 4 bölgeden oluşur. 1- Ekstrasellüler peptid bağlayan, 2- İmmünglobuline benzer, 3- Transmembranik bölge (Hidroforobik), 4- Sitoplazmik bölge.

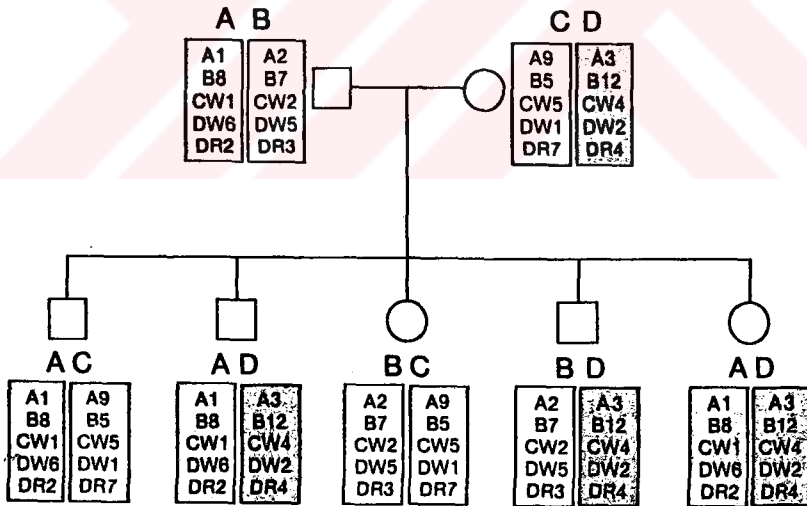
Klas II HLA moleküllerinin fonksiyonları

Hücrel dağılımı sınırlı olup esas olarak B lenfositleri, APC, aktive T hücrelerinde bulunur. CD4(+) T lenfositler antijeni ancak HLA Klas II'ye bağlanmış halde tanır. Kemik iliği transplantasyonunda meydana gelen graft versus host reaksiyonunda donörün T hücreleri ile alıcının HLA Klas II'leri reaksiyona girer(32,92).

HLA Nomenklatürü

Normal bir insan diploittir. Her loküs için 2 antijen taşır. Bir tek kromozom üzerindeki genler tarafından kontrol edilen HLA antijen bileşiğine haplotip denir. Haplotipler anne babadan çocuğa tek birim olarak geçerler. Çapraz geçme (crossing over) olmadığı takdirde bir anne babadan geçen haplotip eşlerinin sadece 4 çeşidi olabilir. Bu nedenle 5. çocuk diğer çocuklardan biri ile özdeş olacaktır. Yani anne ve babadan alınan kromozomlar üzerindeki bütün lokuslar birlikte geçeceği için bir insanın kardeşleri açısından % 25 tam uyum, % 50 yarı uyum, % 25 uygunsuzluk vardır. HLA özdeş kardeşler major doku uygunluğu sisteminin bütün

antijenleri için özdeşdir. HLA özdeş yabancıların ise sadece tayin edilebilir allelleri bakımından özdeş olduklarını söyleyebiliriz. Özdeş olmadıkları alleller olabilir. HLA genleri kodominanttır; hepsi eşit oranda ifade olur. HLA A ve B lokusları arasındaki çapraz geçme sıklığı % 1 olarak hesaplanmıştır. Buna göre HLA-A ve B antijenlerinin dağılımının tesadüfi olması beklenirdi. Halbuki haplotipler üzerindeki bazı antijen bileşiklerine tesadüfle rastlanmayacak şekilde sık rastlanır. Yani toplum içinde HLA genleri rastgele dağılmamıştır. Belirli birliktelikler vardır bu olaya linkage disequilibrium (bağlantı dengesizliği) denir. Örneğin A₁ ve B₈, A₂ ve B₁₂, A₃ ve B₇ sıklıkla birlikte bulunur. Bu durum biyolojik avantajı olan gen kombinasyonlarının doğal seçimle sıklık kazanması ile izah edilir. Diğer izah tarzları ise: a) Bu antijenleri kodlayan genler yakın zamanda oluşmuş ise HLA içinde rastgele dağılmayı sağlayacak rekombinasyon için yeterli zaman geçmemiştir. b) Bu kombinasyonu teşvik eden ve evolüsyonla ilgili başka sebepler olabilir hatta bunun hastalıklarla ilişkisi olabilir(8,36,92).



Literatür 99 sayfa 340'dan alınmıştır.

Şekil 5: Ane ve babadan çocuklara HLA doku grubu antijenlerinin haplotip olarak geçişi ve olasılıkları

Tablo B: HLA Doku Grubu Antijenleri

A	B	C	D	DR	DQ	DP
A1	B5	Bw50 (21)	Cw1	Dw1	DR1	DPw1
A2	B7	B51 (5)	Cw2	Dw2	DR2	DPw2
A3	B8	Bw52 (5)	Cw3	Dw3	DR3	DPw3
A9	B12	Bw53	Cw4	Dw4	DR4	DPw4
A10	B13	Bw54 (w22)	Cw5	Dw5	DR5	DPw5
A11	B14	Bw55 (w22)	Cw6	Dw6	DRw6	DPw6
Aw19	B15	Bw56 (w22)	Cw7	Dw7	DR7	
A23 (9)	B16	Bw57 (17)	Cw8	Dw8	DRw8	
A24 (9)	B17	Bw58 (17)	Cw9 (w3)	Dw9	DR9	
A25 (10)	B18	Bw59	Cw10 (w3)	Dw10	DRw10	
A26 (10)	B21	Bw60 (w40)	Cw11	Cw11 (w7)	DRw11(5)	
A28 (10)	Bw22	Bw61 (w40)		Dw12	DRw12	
A29 (W19)	B27	Bw62 (15)		Dw13	DRw13 (w6)	
A30 (w19)	B35	Bw63 (15)		Dw14	DRw14 (w6)	
A31 (w19)	B37	Bw64 (14)		Dw15	DRw15 (2)	
A32 (w19)	B38 (16)	Bw65 (14)		Dw16	DRw16 (2)	
Aw33 (w19)	B39 (16)	Bw67		Dw17 (w7)	DRw17 (3)	
Aw34 (10)	B40	Bw70		Dw18 (w6)	DRw18 (3)	
Aw36	Bw41	Bw71 (w70)		Dw19 (w6)		
Aw43	Bw42	Bw72 (w70)		Dw20	DRw52	
Aw66 (10)	B44 (12)	Bw73		Dw21		
Aw68 (28)	B45 (12)	Bw75 (15)		Dw22	DRw53	
Aw69 (28)	Bw46	Bw76 (15)		Dw23		
Aw74 (w19)	Bw47	Bw77 (15)		Dw24		
	Bw48			Dw25		
	B49 (21)	Bw4		Dw26		
		Bw6				

Literatür 91 sayfa 1484'den alınmıştır.

A1, A2, B1, B2 gibi numaralandırmalar 0 gen bölgesinin kendi içindeki yerleşim kodlarını ve antijenin bulunuş sırasını belirler. Yanlarında (W) olanlar kesinleşmemiş olan halen üzerinde çalışılan antijenlerdir.

A23(9), A24(9) gibi parantezle belirtilen ifadeler birbirinin spliti olan antijenleri tanımlar yani A9 ifadesi A23 ve A24 genlerinin ortak bir ifadesidir. (A9 olarak belirlenen kişi A23 veya A24 olabilir).

HLA tayininde kullanılan yöntemler

A- Biyokimyasal ve moleküler genetik yöntemler:

- 1- Elektroforez yöntemleri(45)
- 2- DNA hibridizasyonu
- 3- RFLP (Restriction fragment length polimorfizm) (82)

4- PCR ile oligonükleotid problemler kullanılarak(11,43,76,77)

5- Direkt nükleotid sekansı(83)

B- Flow Cytometri

C- Serolojik yöntemler: Standart mikrolenfosit toksisite yöntemi ile HLA tayini(32)

D- Hüresel yöntemler: MLC (Mikst lenfosit kültürü)

PCR ile oligonükleotid problemler kullanılarak HLA Klas II antijenlerinin tayini

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) DNA'daki hedef bölgenin yapay olarak hazırlanmış primerler ile çoğaltılmasıdır. PCR tekniğinin uygulamaya konulması ile HLA düzeyindeki polimorfizmin saptanması serolojik yöntemler yerine DNA'nın moleküler düzeyde incelenmesi ile yapılabilmektedir. Klas II HLA antijenlerinin serolojik yöntemlerle saptanması % 15-20 oranında hatalı tiplere neden olabilmektedir. PCR yöntemi ile daha güvenilir tiplendirme yapılabilmektedir(43,76,77).

HLA ve Hastalık İlişkisi: 70'den fazla hastalıkta HLA bağlantısı gösterilmiştir. Bu hastalıklar çoğunlukla habis olmayan kronik, insidensi düşük, otoimmün kökenli veya mikroorganizmalar gibi çevresel etkenlerin sık görüldüğü hastalıklardır. HLA tayininin bir hastalıkta önemi hastalığın tanısını ya da bir insanın o hastalığa yakalanma riskini belirleyebilmesi anlamındadır(92).

Tablo C'de en belirgin HLA ilişkisi gösteren hastalıklar görülmektedir.

Tablo C: En Belirgin HLA İlişkisi Gösteren Hastalıklar

Hastalık	Antijen sıklığı		Kontrol	Görece Risk	Etyolojik Faktör
	HLA	Hastalar			
Narkolepsi	DR2	100	22	129.8	0.99
Ankilozan Spondilit	B27	89	9	91	0.88
Felty Sendromu	DR4	95	20	76	0.93
Adrenogenital Sendrom					
Tuz kaybı	Bw47	36	1	54.1	0.35
Geç Başlayan	B14	57	4	45.7	0.56
Virulizan form	B5	48	30	4.3	0.37
Bütün tipler	Bw47	11	1	30.9	0.3
Reiter sendromu	B27	79	9	37.6	0.77
Subakut tiroidit	B35	70	15	18.9	0.66
Dermatitis herpetiformis	DR3	82	20	17.3	0.77
	B8	75	22	9.8	0.67
Ig A yetm.	DR3	81	20	17	0.76
Goodpasteur sendromu	DR2	86	29	16.4	0.85
Çölyak Hastalığı	DR3	79	22	11.6	0.72
	DR7	60	15	7.7	0.52
	B8	68	22	7.6	0.5
İdyopatik Membranöz Nefropati	DR3	70	20	12	0.64
Akut anterior üveitis	B27	49	9	9.8	0.44
Sjögren's sendromu	DR3	70	20	9.3	0.63
Adison hastalığı	DR3	70	20	9.3	0.63
İnvenil diyabet	DR4	72	24	9.1	0.64
	DR3	49	22	4.3	0.38
	B8	40	21	2.5	0.24
	B15	22	14	2.1	0.12
Psöriyazis vulgaris	Cw6	56	15	7.5	0.49
	B17	27	8	5.4	0.22
	B13	25	5	4.5	0.19
	B37	7	2	4	0.05
	DR7	48	23	3.3	0.34
İdyopatik hemokromatozis	A3	76	28	8.2	0.67
	B7	48	26	2.9	0.32
	B14	19	6	2.7	0.12
Behçet sendromu	B51(5)	50	11	8.1	0.44

HLA ve Hastalık ilişkisinin muhtemel mekanizmaları(92,100)

- 1- Moleküler benzerlik: HLA antijenleri ile virüs, bakteri ve çevresel antijenler arasında benzerlik veya çapraz reaktivite
- 2- HLA ile ilişkili immün yanıt genleri
- 3- Kompleman ile HLA bağlantısı
- 4- Bazı enzim genlerinin HLA ile bağlantısı
- 5- Farklılaşma ile ilgili genlerin HLA ile ilgisi/yakınlığı
- 6- HLA antijenlerinin enfeksiyon, ilaç ve çevresel etkenlerle değişime uğraması
- 7- Yetersiz immün baskılanma

HLA Tayininin klinikte kullanımı

- 1- Tranplantasyon donörlerinin belirlenmesi(90,91)
- 2- Sensitize olmuş olgularda trombosit donörü belirlenmesi
- 3- Hastalık eğilimi/riski belirlenmesi(92)
- 4- Annelik/babalık davaları, kriminal olaylar(36,96)
- 5- Abortuslu çiftlerde HLA uyumunun saptanması(22,25,29,41)

GEBELİK-ABORTUS ve HLA İLİŞKİSİ

Embriyo, fetüs ve trofoblast babadan geçen gen ürünleri ve dokuya özgü antijenlerden dolayı doğal immünolojik hedeflerdir. Fakat normal şartlarda annenin toleranslı bir immün cevap geliştirdiği, gebeliğin bu sayede devam ettiği ve abortusun meydana gelmediği kabul edilmektedir(15,22,48,75). Plasenta bu toleransın oluşmasında en önemli rolü oynar(22). Endokrin, parakrin ve otokrin mekanizmalar da katkıda bulunur(67).

Transplantasyonda alıcı-verici arasında HLA uygunluğu olması gerekirken, anne, baba ve fetüs arasında böyle bir uygunluk gerekmemektedir(44).

Birden fazla evlilik geçiren kişilerde abortusun eşe bağlı olarak değişmesi, abortusu olan çiftler arasında HLA uygunluğunun abortusu olmayan çiftlere göre fazla bulunması eşler arasında HLA uygunluğu olmasının gebeliğin sürmesi için olumsuz bir faktör olduğunu düşündürmektedir(22,37,44).

Tekrarlayan düşüklere neden olan alloimmün etyolojik faktörler içinde eşler arasındaki HLA uygunluğunun önemli bir yeri olduğu kabul edilmekte bu nedenle tanı çalışmaları yapılırken diğer immünolojik tetkiklerle birlikte eşlerin HLA doku gruplarının tayin edilmesi gerektiği belirtilmektedir(9,41,44,93,102).

PATERNAL-MATERNAL-FETAL DOKU UYGUNLUĞU VE TEKRARLAYAN SPONTAN ABORTUS İLİŞKİSİ

Eşyle fazla sayıda Klas I ve Klas II HLA antijenlerini paylaşan çiftlere ait embriyo ve fetüslerin erken gebelik döneminde selektif bir dezavantaja sahip oldukları belirtilmektedir(22,41,75). Eşler arasında HLA doku grubu antijenleri uygunluğu olduğunda;

- 1- HLA allelleri ile TLX allelleri arasında bağlantı dengesizliği (Linkage disequilibrium) olması nedeniyle(70,71) anti-TLX koruyucu cevabı ve anti-HLA antikorların oluşamayacağı belirtilmektedir(10)
- 2- HLA uygunluğunun letal genleri aktive edebileceği iddia edilmektedir.
- 3- Diğer hücrel mekanizmaların devreye girmesiyle zayıf bir maternal immün regülatur kontrolün olduğu (endometrial granüler lökositler ve onların ürettiği sitokinlerin etkisi ile) ve erken dönemde abortusun meydana geldiği belirtilmektedir(2,15,16).

Eşler arasında hangi antijenlerin daha fazla paylaşıldığına dair yaptıkları çalışmada, Mc Intyre ve arkadaşları HLA-A, HLA-B, HLA-DR loküslerindeki antijen uygunluklarını fazla bulmuşlardır(68).

Normal bir gebelikte eşler arasındaki HLA Doku grubu antijenleri uygunluğunun önemini ortaya koymak için kontrasepsiyon uygulamayan ve komün halinde yaşayan çiftler üzerinde araştırma yapılmış eşler arasında HLA antijenleri uygunluğu arttıkça doğum aralıklarının uzadığı gözlenmiş ve gestasyonun erken dönemlerinde gebelik kayıpları meydana geldiği tespit edilmiştir(22,75).

Bir çalışmada PTSA'lu eşler Klas I ve II HLA antijen uygunlukları yönünden fertil, abortusu olmayan eşlerle karşılaştırılmış; PTSA'lu eşlerde özellikle HLA-A ve HLA-DQ loküslerindeki antijenlerden toplam olarak 3 veya daha fazlasının uygun olduğu STSA'lu eşlerde ise HLA-A, B, DR, DQ loküslerinde toplam olarak 2 veya daha fazla antijenin uygun olduğu görülmüştür(51).

HLA kompleksi ile ilgili resesif genlerin *TSA'ların ve trofoblastik tümörlerin patogeneğinde rol oynadığını düşündüren bir diğer çalışmada(52) TSA'lu olgularda (PTSA ve STSA) eşler arasında HLA antijen uygunluğu 3 ve 3'ün üzerinde bulunmuş gestasyonel trofoblastik tümörlerin görüldüğü ailelerde de eşler arasında Klas I ve Klas II HLA-A,B,DR,DQ loküslerinde toplam olarak 3 veya daha fazla antijen uygunluğu tespit edilmiş, sonuç olarak MHC ile ilgili resesif genlerin fetüs gelişimi ve kansere eğilimi etkilediği iddia edilmiştir. Bu ailelerde abortusa ve trofoblastik tümörlere neden olan genlerin segregasyonlarının normal fertil çiftlere göre daha fazla olması gerektiği düşünülmüştür. Eşler arasındaki fazla HLA antijen paylaşımının abortusa eğilim yarattığını düşündüren başka çalışmalarda vardır(29,53,54,59,60).

Japon popülasyonunda TSA'lu (primer veya sekonder) ailelerde eşler arasındaki HLA uygunluğunun tespiti için yapılan bir çalışmada(62) toplumdaki kişilerden elde edilen HLA spesifitelerinin gen frekansları kay-

*Tekrarlayan spontan abortus

dedilmiş ve istatistiksel bir metodla bazal antijen uygunluk oranları (BAUO) saptanmış ve bu parametre TSA' u olan eşlerdeki BAUO' ı ile karşılaştırılmış, BAUO primer tekrarlayan spontan abortusu olan eşlerde HLA-DR ve DQ loküsü antijenlerinde belirgin olarak fazla bulunmuş ve BAUO' ın HLA paylaşımının tespiti için faydalı bir parametre olduğu sonucuna varılmıştır.

Tekrarlayan spontan abortusu olan eşlerin oluşturduğu ailelerde ve çocuklarında yapılan haplotip analizleri TSA' lu çiftlerin kontrol grubuna göre belirgin fazla HLA paylaşımına sahip olduklarını ortaya koymuştur(64).

HLA uygunluğu olan eşlerde immünizasyon tedavisi ile başarılı gebelikler elde edilmesi(1,56,85,93) eşler arasındaki HLA uygunluğunun abortusların etyolojisinde rol oynayan önemli bir alloimmün faktör olduğunun kanıtıdır.

Eşler arasındaki HLA uygunluğunun abortus etyolojisinde önemli rolü olmadığını iddia eden yayınlar da vardır. 57 PTSA' lu ve 57 Normal fertil çiftin karşılaştırıldığı bir çalışmada eşler arasındaki HLA paylaşımı yönünden anlamlı bir fark bulunmadığı belirtilmektedir(6). Yine bu şekilde iki grubun karşılaştırıldığı bir çalışmada ne tek bir HLA loküsü için ne de tüm loküslerin kombinasyonu için HLA antijenlerinin uygunluğunda fazla bir fark bulunmamış ve HLA uygunluğunun TSA' ların etyolojisinde minimal bir rolü olabileceği vurgulanmıştır(28).

TSA' larda HLA doku uygunluğunun etkisi ve lökosit immunoterapi ile ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada TSA' u olan kadınların yarısından fazlasının eşleriyle 2 veya daha fazla HLA-A,B,DR loküsü antijenlerini paylaştıkları görülmüş ($p < 0.01$); fakat bu grubun klinik ve laboratuvar özellikleri ve immünoterapiyi takip eden gebelik başarı hızlarının HLA uygunluğu olmayan eşlerden farklı olmadığı tespit edilmiştir(61).

HLA ile ilişkili genlerin TSA' larda rol oynadığı gibi etyolojisi

belirlenememiş infertilitesi olan çiftlerde invitro fertilizasyonun ve tubal embriyo transferinin başarısını da etkilediği iddia edilmektedir(50).

Tedavinin başarısız olduğu ailelerde 3 veya daha fazla HLA-A,B,DR,DQ loküsü antijenleri paylaşımı olduğu görülmüştür.

TEKRARLAYAN DÜŞÜKLERİ OLAN AİLELERDE HLA SEGREGASYON ORANLARI

Gebelik sırasında annesiyle HLA uygunluğu olan fetusların beklenenden daha azının miyada ulaştığı, HLA'sı ortak olan çiftlerin döllerinin segregasyon oranlarının teorik beklentiden farklı olabileceği, popülasyon seviyesinde beklenen homozigotlardan daha azının gözlemlendiği, homozigot fetüslerin HLA uyumlu olduğu ve elimine olma şanslarının fazla olduğu belirtilmektedir(75). HLA antijenleri anneye uyumlu döllerin frekansı azalmış olarak tespit edilmektedir(54).

Bu durumun HLA veya HLA ile ilgili loküslerin letal veya semiletal allellere karşı bir seleksiyonun sonucunda olabileceği belirtilmektedir. Sonuç olarak bu çalışmalar erken dönemdeki gebelik kayıplarının HLA uygunluğu ile ilişkili olduğunu destekler niteliktedir.

TSA' u olan kadınların anne, baba ve kardeşlerinin HLA haplotiplerinin incelendiği bir çalışmada probandın kızkardeşlerinin segregasyonu mendelian segregasyondan beklenenden farklı bulunmuş ve probandla aynı haplotipi paylaşan kızkardeşlerde abortus hızı antijen paylaşmayan kızkardeşlere göre çok fazla olarak saptanmıştır(29,73).

Tekrarlayan abortuslara eğilimin, HLA loküsündeki genler tarafından belirlenen kalıtsal bir durum olabileceği düşünülmektedir ve bu veriler kadınlarda HLA'ya bağlı "spontan abortus duyarlılık bölgesi" (SASR) tarafından kontrol edilen predominant fenotipik ekspresyonlu bir bölgenin varlığını düşündürmektedir. Bu gözlem HLA ile ilgili hastalıkları olan ailelerdeki gözlemlerle paralel olabilir(29).

Japonya'da yapılan üretkenlikte HLA antijenleri ve segregasyonlarının etkisinin araştırıldığı bir çalışma da, sağlıklı Japon ailelerde anne-baba ve çocukların HLA haplotipleri incelenmiş; annesiyle ortak antijen paylaşan çocukların (özellikle HLA-A ve DR lokus antijenleri için) düşük oranda görüldüğü, bunun reproduktif seleksiyonun bir sonucu olduğu ve üretkenlik üzerine HLA antijenlerinin rolü olduğu sonucuna varılmıştır(54).

DEVAM EDEN GEBELİKLERDE MATERNAL-FETAL DOKU UYGUNLUĞU

Devam eden gebeliklerde anne ve fetüs arasındaki HLA uygunluğunun fetüsün büyümesi, cinsiyeti, doğum ağırlığı üzerine etkisi olduğunu ileri süren çalışmalar vardır(27,80).

Seks oranı: Annesiyle HLA-DR uyumlu bebeklerin erkek olduğu iddia edilmektedir(54).

Bir diğer çalışmada konsepsiyonda erkek zigotların daha ön planda olduğu ve erkek abortusların dişi abortuslardan daha fazla olduğu belirtilmekte, eşler arasında HLA-A ve HLA-B loküs antijenlerinde uygunluk ve anne fetus arasında HLA-B loküs antijenleri arasında uygunluk varsa dişi fetüslerin ön planda olduğu, eşler arasında 3 loküs antijenleri (HLA-A,B,DR) arasında da uygunluk varsa ilk erkek doğumlarının arttığı iddia edilmektedir(3).

Fetal büyüme: Farelerde doku uygunluğu olan gebeliklerde doğum ağırlığı düşük, plasenta küçük bulunmuştur. Haplotipler üzerinde taşınan tekrarlayan düşüklerle ilgili genlerin fetal büyümeyi de etkilediği düşünülmektedir.

MATERNAL-FETAL DOKU UYGUNLUĞU VE MATERNAL OTOİMMÜN HASTALIK

Annenin gebelik esnasında kendi antijenlerine karşı tolerans geliştirme ihtiyacı daha fazla otoimmün hastalık görülmesine sebep olabilir. Gebelikte paternal allo antijenlerin tanınması zararlı otoimmün cevaba karşı koruyucudur. Tersine maternal-fetal antijen uyumlu gebelikler otoimmüniteye sebep olabilir(75).

ABORTUSLU OLGULARDA HLA LOKÜSLERİNDEKİ ANTİJENLERİN SIKLIĞI

TSA' u olan eşlerle normal fertil çiftlerin HLA loküslerindeki antijen sıklıkları yönünden karşılaştırıldığı bir çalışmada HLA-A7, HLA-A9 ve HLA-DR5 sıklığı TSA' u olan eşlerde fazla bulunmuş(51,97); HLA-DR5 (+) olan kişilerde Hashimoto tiroiditi, pernisiyöz anemiye sık rastlanmış, aynı zamanda bu kişilerde ACI (Antikardiyolipin) antikoru da yüksek titrede tespit edilmiştir. Buradan HLA-DR genlerinin spesifik otoantikor üretimini kontrol edebileceği sonucu çıkarılmıştır. Benzer bir sonuç HLA DR7 ve ACI antikoru arasında da bulunmuştur(101). Abortuslu eşlerde HLA-A3, B7, HLA-DR sıklığının fazla olduğunu belirten bir çalışma(60) ve PTSA' lu eşler arasında HLA-B 18 sıklığının fazla olduğunu iddia eden bir çalışma mevcuttur(61).

TSA nedeniyle immünizasyon yapılmış kadınlarda spesifik HLA antijenlerinin araştırıldığı bir çalışmada HLA-DR 5 sıklığı kontrol popülasyona göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuş(89) ve bu kadınlarda antinükleer antikor ve diğer otoantikorların da pozitif bulunması altta yatan bir otoimmün hastalığı düşündürmüştür.

Klas II HLA Antijen ekspresyonunun gebelik ve abortus açısından önemi:

Normal şartlarda gestasyonel siklus boyunca plasental doku klas II MHC antijenlerini ifade etmez. Bu fenomenin fetal yaşam için önemli olup olmadığı henüz ortaya konmamıştır.

Klas II antijen ekspresyonunun fetal abortusta etkili olabilen kardiyak ve renal graft rejeksiyonunda önemli rolü olduğu belirtilmektedir. Yapılan bir çalışmada murin plasentasında klas II HLA antijen ekspresyonunun 5 azacytidine ile indüksiyonu fetal abortus ile ilişkili bulunmuştur. 5 Azacytidinin abortif etkisi allojenik hamilelikte antipaternal klas II monoklonal antikörlerin kullanımı ile önlenmektedir(4).

MATERYAL VE METOD

Materyal

İstanbul Üniversitesi İst.Tıp. Fak. İç Hast. A.B.D. Tıbbi Genetik Bilim Dalı Polikliniğine 1988-1995 yılları arasında tekrarlayan abortus şikayetiyle başvuran 106 çift çalışma grubu olarak alındı. Çalışma grubunda yeralan tekrarlayan spontan abortusu (TSA) olan çiftler kendi içinde iki gruba ayrıldı. En az 2 ve daha fazla spontan, ardışık abortusu olup hiç sağlıklı çocuğu olmayan 70 çift primer tekrarlayan spontan abortus (PTSA) grubu; en az 1 sağlıklı çocukları olup 2 ve daha fazla spontan ardışık abortusu olan 36 çiftte sekonder tekrarlayan spontan abortus (STSA) grubu olarak kabul edildi.

Kontrol grubu olarak en az 2 sağlıklı çocuğu olup hiç abortusu olmayan 70 fertil çift alındı.

Çalışma grubundaki çiftlerin ilk müracaatta akrabalık durumlarını, öz ve soy geçmişlerini, gebelikle ilgili bilgileri içeren anamnezleri alındı. Terasaki mikrolenfosit toksisite testi ile eşlerin Klas I ve Klas II HLA doku grupları belirlendi. Ayrıca çiftlerin genetik yönden fenotipik özellikleri incelendi. Dahili fizik muayeneleri yapıldı. Kadınlar Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalında jinekolojik yönden muayene edildiler. Gerek görüldüğü takdirde abortusa neden olabilecek anatomik nedenleri

ortaya çıkarmak amacıyla ultrasonografi ve histerosalpingografi yapıldı. Kan grubu tayini, hemogram, tam idrar incelemesi, açlık kan şekeri (gereğinde oral glukoz tolerans testi), tam kan biokimyasal analizi yapıldı. Abortustaki etyolojik nedeni ortaya koyabilmek amacıyla hormon tetkikleri (LH, FSH, Östrojen, progesteron, testosteron, T₃, T₄, serbest T₄, TSH) mikrobiyolojik tetkikler (TORCH etmenleri, *Listeria monositogenez* agglutinasyon testi, HBs Ag ve Anti HBc, Brucella agglutinasyon testi, kadınlarda vaginal sekresyonda, erkeklerde semende ELISA yöntemiyle *Chlamidya trachomatis* antijeni aranması, nonspesifik ve *üreaplazma* yönünden kültürler yapıldı.) Otoimmün etyolojiyi ortaya koymak amacıyla antikardiyolipin antikorları ve alloimmün etyoloji yönünden antisperm antikorları tayin edildi. Erkeklerden spermiyogram istendi. Eşlerin kromozomal konstitüsyonunu gösterebilmek için çiftlerden periferik kan lenfosit kültürü ile elde edilen metafaz figürleri GTL (Giemsa Tripsin Bantlama) ve C (Sentromer) Bantlama yöntemleri ile boyanarak kromozomların sayısal, yapısal ve heterokromatin polimorfizmi yönünden özellikleri incelendi.

Çalışma grubundaki tekrarlayan spontan abortuslu çiftler (T.S.A)

Primer tekrarlayan spontan abortusu olanlar (P.T.S.A) : 70 çift ve

Sekonder tekrarlayan spontan abortusu olanlar (S.T.S.A) : 36 çift akraba olup olmadıklarına ve akrabalık ilişkisinin ikisi arasında ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiki bir anlam taşıyıp taşıyamaması yönünden araştırıldı. P.T.S.A. ve S.T.S.A grubundaki eşlerin yaş dağılımı, en az ve en çok abortus sayıları ile ortalama abortus sayıları hesaplandı. T.S.A olan (primer ve sekonder) çalışma grubu ile fertil grup Klas I ve Klas II HLA loküslerindeki her bir loküsdeki (HLA-A,B,DR,DQ) antijen uygunlukları (0,1,2 uygunluk) HLA-A+B loküslerindeki (Klas I) antijen uygunlukları (0,1,2,3,4) uygunluk, HLA-DR+DQ (Klas II) antijen uygunlukları (0,1,2,3,4) uygunluk ve Klas I + Klas II (HLA-A+B+DR+DQ) HLA loküslerindeki (0,1,2,3,4,5,6) total antijen uygunlukları yönünden karşılaştırıldılar ve bu antijen uygunluklarının istatistiki anlamı olup olmadığı değerlendirildi.

Daha sonra çalışma grubunu oluşturan PTSA'lu eşlerde ve STSA'lu eşlerde ve bunların ikisinde birarada (TSA grubu) ve kontrol grubunu oluşturan eşlerde akraba olan ve olmayan çiftlerde HLA loküslerindeki antijen uygunlukları (tek tek loküslerde ve toplam olarak bütün loküslerdeki antijen uygunlukları yönünden) gruplar birbirleri ile karşılaştırılarak değerlendirildi ve istatistiki anlamı olup olmadığı tespit edildi.

Son olarak çalışma ve kontrol grubundaki çiftlerde Klas I ve Klas II HLA loküslerindeki HLA antijenleri sıklıkları belli bir antijen persistansı olup olmadığını saptamak için değerlendirildi ve istatistiksel anlamlılığı tespit edildi. Bulguların istatistiksel analizinde, Fisher'in kesin χ^2 yöntemi uygulandı.

Metod

Çalışma ve kontrol grubundaki çiftlerin HLA doku grupları tayini Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Transplantasyon Merkezinde Terasaki Mikrolenfosit Toksikite Metodu ile yapılmıştır.

Terasaki Mikrolenfosit Toksikite Metodu ile HLA Doku Gruplarının Tayini(12,91)

Metodun esası lenfosit ve antiserumun birarada inkübe edilmesi, lenfosit üzerinde o antiserumu tanıyan reseptör varsa kompleman varlığında hücre membranının lizise uğrayarak hücrenin ölmesi, tripan mavisi veya eosin gibi vital boyaları içine alan bu ölü hücrelerin daha büyük ve görünür hale gelmesidir. Boya alan hücrelerin yüzdesi hesaplanarak insan lökosit antijenleri (HLA antijenleri) tespit edilir. Test edilen serum negatif kontrole göre % 50 veya daha fazla hücre ölümüne neden olursa sonuç pozitif olarak değerlendirilmektedir.

Kullanılan Malzemeler

- 1- HBSS
- 2- Tavşan komplemanı (Liyofilize örnek 1 mL bidistile su ile sulandırılır)

- 3- Trypan mavisi veya Eosin
- 4- EDTA
- 5- Terasaki Plakları
- 6- Koyun eritrositleri (E Rozet Testi için) (koyun kanı)
- 7- Sıvı parafin
- 8- Antiserum: Testte antiserum kaynağı genel olarak çok doğum yapmış hastaların serumları kullanılır.
- 9- Antijen kaynağı olarak periferik kandan elde edilen lenfositler kullanılır.

Klas I HLA antijenleri hem B hem T lenfositleri yüzeylerinde bulunduğu için bu antijenlerin tayininde total lenfositler (mikst lenfositler) kullanılır.

Klas II HLA antijenleri ise monosit, makrofaj ve aktive T lenfositlerinde çok az miktarlarda bulunmakla birlikte esas olarak B lenfosit yüzeyinde bulunurlar, bu nedenle bu antijenlerin tayininde B lenfositleri kullanılır. B lenfositlerini saf olarak elde edebilmek için değişik metodlar vardır. Örneğin;

- Koyun eritrositleriyle yapılan E rozet testi
- İmmün rozet testi
- Nylon-Coton wool yöntemiyle T lenfositleri ayrılması
- Monoklonal Antikorlar kullanılarak B lenfositlerin saflaştırılması (T lenfositlerin monoklonal Pan T antikor ve kompleman yardımıyla uzaklaştırılması) esasına dayanır.

Bu yöntemlerden biriyle elde edilen B lenfositleri Klas II HLA antijenlerinin tayini için kullanılabilir.

Klas I HLA Doku Tipi Tayini

Önce antijen kaynağı olarak mikst lenfositlerin (total lenfositlerin → T+B) elde edilmesi gerekir.

. Mikst lenfositlerin hazırlanması

- 24 saat aç kalmış ve ilaç kullanmamış HLA doku tipi tayin edilecek kişinin 5 mL heparinize kanı alınır.
- Alınan kan 5 mL HBSS ile sulandırılır.
- Konik bir tüp içine konmuş olan 5 mL Lymphoprep (ficol) üzerine 6 mL (Kan+HBSS) solüsyonundan santrifüj tüpünün kenarından pasteur pipeti ile sızdırılır.
- 30 dakika 1500 rpm'de santrifüj edilir.
- Lenfositler lymphoprep'in üzerinde beyaz bir bant şeklinde kümelenirler.
- Bu bant (lenfositler) pasteur pipeti ile çekilir.
- Bu lenfositler üzerine 5 mL HBSS ilave edilir.
- Karışım 10 dakika 1500 rpm ile santrifüj edilir.
- Üst kısım (süpernatant) atılır. Pelet üzerine tekrar HBSS ilave edilir.
- Karışım 10 dakika 1500 rpm'de santrifüj edilir (yıkandır).
- Yıkama işlemi 3 kez tekrarlanır.
- Son yıkamadan sonra hücreler 2500-3000 tane/mm³ olacak şekilde HBSS ile sulandırılır.

. Plakların Hazırlanması

- Falcon 3034 Terasaki Plastik Plaklara likit parafin konarak kuyucuklar parafinle kapatılır.
- Bir süre bekletildikten sonra fazla parafin süzülerek alınır.
- Sulandırılmış antiserumlar parafin altına her kuyucuğa ayrı serum olmak üzere 1'er mikrolitre Hamilton Pipeti ile konur.
- Hazırlanmış plaklar -20°C'de 30 dakika inkübe edilir. İhtiyaç oldukça kullanılır.

. Plakların Doldurulması

- Klas I plağındaki bütün kuyucuklara yeni hazırlanmış lenfosit süspansiyonundan 1'er mikrolitre konur.

. Komplemanla Muamele

- Plaklardaki her kuyucuğa yeni sulandırılmış tavşan komplemanından 5'er mikrolitre ilave edilir.
- 24°C'da 60 dakika inkübe edilir.

. Plakların Boyanması

- İnkübasyon sonunda plaklardaki her kuyucuğun üzerindeki fazla parafin çok ince pasteur pipeti ile çekilir.
- Her kuyucuğa 1'er mikrolitre tripan mavisi çözeltisi ilave edilir.
- Oda sıcaklığında 10 dakika bekletilir.
- Bütün kuyucuklara taze hazırlanmış % 5 EDTA çözeltisinden 1'er mikrolitre konur.

. Hücrelerin Sayımı

Okuma faz kontrast mikroskobunda 100 veya 200 büyütmede yapılır. Okumada (+) hücreler ölüdür. Yani lenfosit üzerinde o antiserumu tanıyan reseptör varsa kompleman varlığında lenfositin membranı lizise uğrar, hücre ölür ve boyayı içine alır. Boya alan (+) hücreler daha büyük ve renkli görülür.

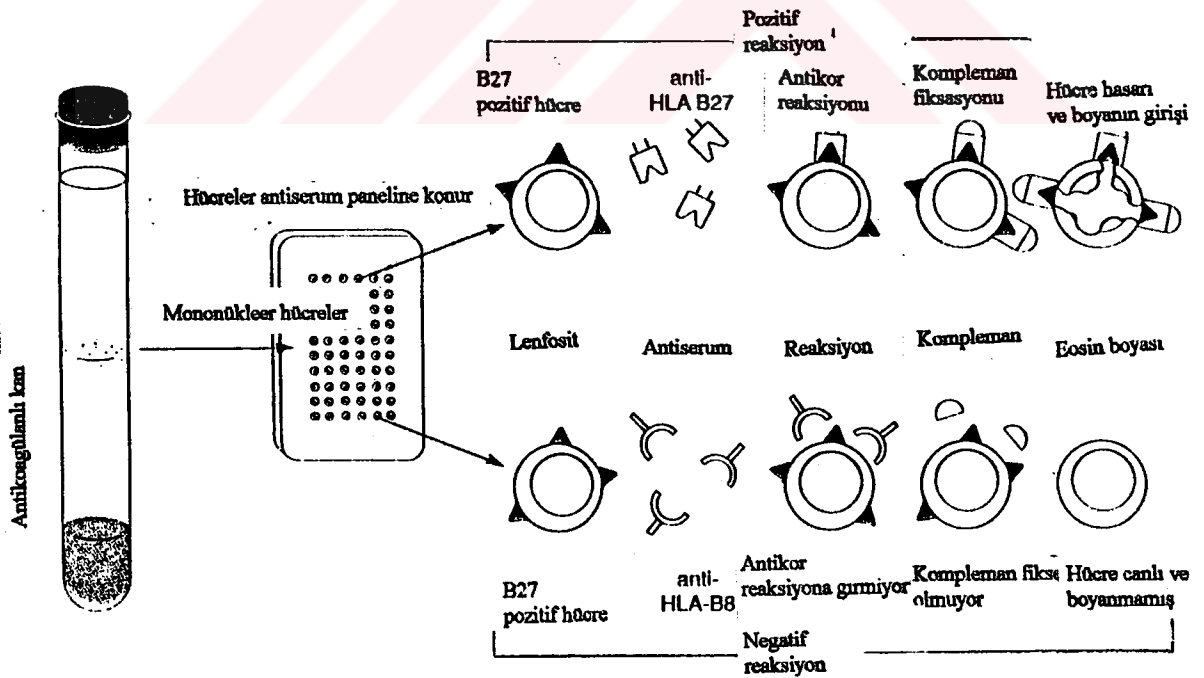
Klas II HLA Doku Tipi Tayini

Klas II HLA Doku Tipi Tayini için önce B lenfositlerin saflaştırılması gerekir.

. B lenfositlerin E. Rozet yöntemi ile saflaştırılması

Koyun eritrositleri insan T lenfositleriyle karıştırıldığında spontan rozet oluştururlar. Bunu T hücre membranındaki T₁₁ reseptörlere bağlanarak yaparlar. Bu özelliklerinden yararlanarak deneysel olarak T-B lenfositleri ayırt edilebilir.

- 0.05 mL koyun kanı 5 mL HBSS üzerine ilave edilir.
- Sayılarak hazırlanmış mikst lenfositlerin bir kısmı Klas I terasaki plağı için ayrıldıktan sonra artan lenfositler (koyun kanı + HBSS solüsyonu üzerine dökülür)
- 1000 rpm'de 2 dakika santrifüj edilir (koyun eritrositleri ile lenfositlerin iyice temas etmesi için)
- 37°C'de 15 dakika inkübe edilir.
- Hafifçe çalkalanıp hücreler karıştıktan sonra 5 mL Lymphoprep üzerine tüp içeriği konulur.
- 1500 rpm'de 30 dakika santrifüj edilir.
- Oluşan bantta artık sadece B lenfositleri vardır.
- İşlemin devamı klas I HLA antijenleri için yapılanlar ile aynıdır.
- Klas I'den tek farkı B lenfositlerin inkübasyon süresinin Klas II antikolarıyla 60 dakika ve komplemanla 120 dakika olmasıdır. Temperatur farkı yoktur.



Daniel P. Sitas, Abba I Terr. Basic and Clinical Immunology (1984) 7th edition sayfa 288'den alınmıştır.

Şekil 6: Mikrolenfosit toksisite testi

B U L G U L A R

İç Hastalıkları ABD Tıbbi Genetik Bilim Dalına tekrarlayan abortus şikayetiyle başvuran 106 çift (70 çift PTSA, 36 çift STSA) çalışma grubu olarak alındı. Kontrol grubu olarak en az 2 sağlıklı çocuğu olup, hiç abortusu olmayan 70 fertil çift alındı.

Tekrarlayan spontan abortusu (TSA) olan eşlerde (primer ve sekonder abortus grubunda) abortuslar *1. Trimestr abortusu idi.*

Çalışma grubundaki eşlerin yaş ortalaması 26.85 ± 3.84 . Kontrol grubundaki eşlerin yaş ortalaması 26.20 ± 3.30 olarak bulundu.

Çalışma ve kontrol grubundaki olguların yaş dağılımı Tablo 1'de görülmektedir.

Çalışma grubundaki olguların abortus sayılarına göre dağılımı incelendiğinde (Tablo 2);

PTSA grubunda en az abortus sayısı 2, en fazla abortus sayısı 8, ortalama abortus sayısı 2.98 ± 1.18 bulundu.

STSA grubunda en az abortus sayısı 2, en fazla abortus sayısı 4, ortalama abortus sayısı 2.52 ± 0.60 idi.

PTSA grubunda: 28 kadın 2 abortus, 27 kadın 3 abortus, 9 kadın 4 abortus, 2 kadın 5 abortus, 3 kadın 6 abortus, 1 kadın 8 abortus yapmıştı. 70 kadın toplam 209 abortus yapmıştı.

STSA grubunda: 19 kadın 2 abortus, 15 kadın 3 abortus 2 kadın 4 abortus yapmıştı. 36 kadın toplam 91 abortus yapmıştı.

PTSA + STSA= Tekrarlayan spontan abortus grubunda ortalama abortus sayısı: 2.83 ± 1.04 bulundu.

47 kadın 2 abortus, 42 kadın 3 abortus, 11 kadın 4 abortus, 2 kadın 5 abortus, 3 kadın 6 abortus, 1 kadın 8 abortus yapmıştı.

TSA grubunda (PTSA ve STSA) ve fertil gruptaki akrabalık ilişkileri incelendiğinde özellikle PTSA grubundaki eşler arasında diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı derecede akrabalık tespit edildi (Tablo 3).

PTSA grubunda 36 çift akraba idi. STSA grubunda 15 çift akraba idi, fertil olup abortuslu olmayan grupta 5 çift arasında akrabalık vardı.

PTSA Grubu fertil grup ile karşılaştırıldığında; PTSA grubundaki çiftler arasında anlamlı derecede akrabalık ilişkisi tespit edildi $p=0.000$ ($p<0.05$).

STSA grubu fertil grup ile karşılaştırıldığında; STSA grubundaki çiftler arasında anlamlı derecede akrabalık ilişkisi vardı $p=0.001$ ($p<0.05$).

PTSA'lu ve STSA'lu gruplar birbiri ile karşılaştırıldığında iki grup arasında akrabalık yönünden anlamlı bir fark yoktu. $p=0.4665$ (anlamlı değil)

PTSA + STSA= TSA grubu fertil grup ile karşılaştırıldığında TSA'lu gruptaki çiftler arasında anlamlı derecede akrabalık ilişkisi tespit edildi $p=0.000$ ($p<0.05$).

Çalışma grubundaki eşlerde abortusları izah edecek anatomik, endokrinolojik ve enfeksiyöz, genetik bir neden bulunamadı. Alloimmün etyoloji açısından eşlerin ve karşılaştırma amacıyla kontrol grubundaki eşlerin HLA doku grubu antijenleri Terasaki Mikrolenfosit toksisite yöntemi ile tayin edildi.

Tekrarlayan spontan abortusu (TSA) olan (PTSA ve STSA) çalışma grubu fertil, en az 2 sağlıklı çocuğu olup abortusu olmayan kontrol grubu ile eşler arasındaki HLA loküslerindeki antijen uygunlukları yönünden karşılaştırıldı.

Klas I HLA Antijenleri (HLA-A ve HLA-B)

HLA-A loküsündeki antijenler yönünden eşler arasında 0 (uygunluk yok) 1,2 antijen uygunluğu araştırıldı aynı işlem HLA-B loküsü için yapıldı. Daha sonra HLA-A+B loküsleri yönünden total antijen uygunluğu araştırıldı.

Klas II HLA Antijenleri (HLA-DR ve HLA-DQ)

HLA-D ve DQ loküslerindeki antijen uygunlukları ve HLA-D + DQ loküsleri yönünden total antijen uygunluğu ve son olarakta Klas I + Klas II loküslerindeki total antijen uygunlukları araştırıldı ve istatistiksel anlamlılıkları tespit edildi.

Tablo 4 TSA'lu (PTSA, STSA) çalışma grubu ile abortusu olmayan fertil çiftlerin HLA loküslerindeki antijen uygunlukları yönünden karşılaştırılmalarını göstermektedir.

Tablo 5 PTSA grubu ile abortusu olmayan fertil çift grubunun HLA loküslerindeki antijen uygunlukları yönünden karşılaştırılmasını ve istatistiksel anlamlılıklarını göstermektedir. Gruplar HLA-A loküsündeki

antijen uygunlukları yönünden karşılaştırıldığında abortusu olmayan fertil çift grubundaki 70 çiftin 51'inde HLA-A loküsündeki antijenlerden hiçbiri uygun değildi. $p=0.000$ ($p<0.05$ anlamlı). 1 ve 2 antijen uygunluğu yönünden de anlamlı sonuçlar elde edildi. B loküsü açısından gruplar arasında fark yoktu. DR loküsünde ise fertil grupta uygunsuzluk, PTSA'lu grupta ise 1 ve 2 antijen uygunluğu istatistiki olarak anlamlı bulundu.

HLA-A ve B loküslerindeki antijen uygunlukları birlikte değerlendirildiğinde Fertil grupta antijen uygunsuzluğu fazla ve anlamlı, PTSA'lu grupta ise 3 antijen uygunluğu anlamlı idi. HLA-DR ve DQ loküsleri birlikte değerlendirildiğinde fertil grupta antijen uygunsuzluğu, PTSA'lu grupta 2 antijen uygunluğu anlamlı idi. Klas I ve Klas II HLA loküslerindeki total antijen uygunluğu açısından PTSA'lu gruptaki eşler arasında fertil gruptaki eşlere göre 1,3,4,5, antijen uygunluğu açısından istatistiki anlamlılık tespit edildi.

STSA'lu grup ile fertil grubun HLA loküslerindeki antijen uygunlukları yönünden karşılaştırılmasını Tablo 6 göstermektedir. Tabloda da görüleceği şekilde HLA-A loküsündeki antijen uygunlukları yönünden yapılan değerlendirmede STSA'lu grupta

1 HLA-A antijen uygunluğu istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde fazla bulundu.

2 antijen uygunluğunda anlamlılık tespit edilmedi.

HLA-B loküsü antijenleri uygunluğu açısından yapılan değerlendirmede 2 grup arasında fark bulunmadı.

HLA-DR loküsünde fertil grupta uygunsuzluk, STSA'lu grupta 1 anlamlılık uygun bulundu.

DQ loküsü yönünden anlamlılık bulunmadı.

Total uygunluk açısından fertil grupta total antijen uygunsuzluğu STSA'lu grupta ise 1 ve 2 antijen uygunluğu istatistiki olarak anlamlı bulundu.

PTSA+ STSA= Tekrarlayan spontan Abortus (TSA)'lu grubun abortusu olmayan fertil çift grubu ile HLA loküslerindeki antijen uygunlukları yönünden karşılaştırılması Tablo 7'de görülmektedir.

HLA-A loküsünde Fertil grupta antijen uygunsuzluğu istatistiki olarak anlamlı bulundu $p=0.000$ ($p<0.05$). 1 Antijen uygunluğu TSA'lu grupta anlamlı idi.

HLA-B loküsü antijenleri uygunluğu açısından iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Yine HLA-A+B loküs antijenleri arasında 1,2,3,4 uygunluk açısından anlamlılık tespit edilmedi.

HLA-DR loküsünde fertil grupta antijen uygunsuzluğu istatistiki olarak anlamlı bulundu.

1 ve 2 DR antijen uygunluğu TSA'lu grupta anlamlı olarak fazla idi.

HLA-DQ loküsünde Fertil grupta antijen uygunsuzluğu istatistiki olarak anlamlı bulundu. 1 DQ antijeni uygunluğu TSA'lu grupta anlamlı olarak fazla idi.

DR+DQ loküsün birlikte değerlendirildiğinde 2 DQ antijeni uygunluğu TSA'lu grupta anlamlı olarak fazla idi.

Total uygunluk açısından fertil grupta total antijen uygunsuzluğu, TSA'lu grupta ise 1,2,3,4, antijen uygunluğu fertil gruba göre anlamlı olarak fazla idi.

Tekrarlayan spontan abortusu olan (primer ve sekonder) ve abortusu olmayan fertil grup akrabalık durumlarına göre HLA loküslerindeki antijen uygunlukları yönünden karşılaştırıldılar.

PTSA'lu eşlerin akraba olup olmamalarına göre HLA-A, B, DR, DQ loküslerindeki antijen uygunluklarının karşılaştırılması Tablo 8'de görülmektedir. HLA-A loküsündeki antijen uygunlukları akraba olan çiftlerde anlamlı olarak fazla bulundu. Aynı şekilde HLA-DR, DQ loküslerindeki antijen uygunlukları da (1,2 uygunluk) istatistiksel olarak akraba olan grupta fazla idi.

Tablo 9 akraba olan ve olmayanları total antijen uygunluğu açısından karşılaştırmaktadır; Total antijen uygunluğu açısından da (1,2,3,4,5 uygunluk) akraba olan çiftlerde istatistiki olarak anlamlı fazla antijen uygunluğu tespit edildi.

Tablo 10: Primer tekrarlayan spontan abortus grubundaki eşler arasında HLA loküslerinde hangi HLA antijenlerinin uygun olarak saptandığını göstermektedir. Grupta HLA-A2, HLA-DR5 ve HLA-DQ1 antijenleri açısından uygunluk diğer antijenlere göre fazla bulundu.

Tablo 11 STSA'lu eşlerin akrabalık durumlarına göre HLA-B, B, DR, DQ loküslerinde antijen uygunluklarını göstermektedir. Anlamlı bir sonuç elde edilmedi.

Tablo 12 STSA'lu grupta total antijen uygunluğu açısından aynı karşılaştırmayı yapmaktadır. Akraba olan eşler arasında akraba olmayanlara göre gerek tek tek HLA loküslerindeki (HLA-A,B, DR, DQ) gerekse bütün loküslerdeki total antijen uygunluğu açısından bir anlamlılık tespit edilmedi.

Tablo 13 STSA grubundaki eşler arasında HLA loküslerinde hangi HLA antijenlerinin uygun olarak saptandığını göstermektedir; belli bir istatistiksel anlamlılık tespit edilmedi.

Tablo 14 *PTSA + STSA*= Tekrarlayan spontan abortus grubundaki (TSA) eşlerde akrabalık durumlarına göre HLA loküslerindeki antijen uygunluklarını göstermektedir.

Sadece HLA-DR loküsü antijenleri uygunluğu akraba olan eşlerde akraba olmayanlara göre istatistiki olarak anlamlı olacak şekilde fazla bulundu, diğer HLA loküs antijenlerinde ve toplam uygun antijen sayısında fark bulunmadı.

Tablo 15 *PTSA + STSA*= TSA grubundaki eşlerde akrabalık durumlarına göre HLA loküslerindeki total uygun antijen sayısı yönünden karşılaştırma yapmaktadır.

Tablo 16'da Abortusu olmayan fertil eşlerde akrabalık durumlarına göre HLA loküslerindeki antijen uygunluklarını göstermektedir. Akraba olan ve olmayan eşler arasında HLA-loküs antijenleri uygunluğu açısından fark bulunmadı.

Tablo 17 Abortusu olmayan fertil eşlerde akrabalık durumlarına göre HLA loküslerindeki total antijen uygunluklarını göstermektedir. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

Tablo 18 Fertil çiftlerde eşler arasında HLA loküslerindeki hangi antijenlerin uygun olduğunu göstermektedir. Belli bir HLA antijeni uygunluğu fazla olarak bulunmadı.

Tablo 19, 20 ve 21'de tekrarlayan spontan abortusu olan (primer ve sekonder) ve abortusu olmayan çiftlerde HLA A,B,DR ve DQ loküslerindeki antijen sıklıkları görülmektedir. *PTSA* grubunda HLA-A₂, HLA-DR₅, HLA-DQ1, sıklığı fazla bulundu.

Tablo 1: Çalışma ve kontrol grubundaki olguların yaş dağılımı

	Çalışma grubu (T.S.A.*)				Kontrol grubu	
	P.T.S.A**		S.T.S.A***			
	E	K	E	K	E	K
Yaş Ortalaması	28.65	24.74	29.94	26.61	28.22	24.18
Minimum	21	21	20	20	23	22
Maksimum	39	36	38	34	40	37
Toplam olgu sayısı	70	70	36	36	70	70

*: T.S.A.: Tekrarlayan Spontan Abortus

** : P.T.S.A. : Primer Tekrarlayan Spontan Abortus

***: S.T.S.A. : Sekonder Tekrarlayan Spontan Abortus

Tablo 2: Olguların abortus sayılarına göre dağılımı

	P.T.S.A Grubu		S.T.S.A Grubu		Toplam T.S.A.	
	Abortus sayısı	Olgu sayısı	Abortus sayısı	Olgu sayısı	Abortus sayısı	Olgu sayısı
	2	28	2	19	2	47
	3	27	3	15	3	42
	4	9	4	2	4	11
	5	2			5	2
	6	3			6	3
	8	1			8	1
Toplam	209	70	91	36	300	106

Tablo 3: Çalışma ve kontrol gruplarındaki akrabalık dağılımı

	P.T.S.A.	S.T.S.A	P.T.S.A+S.T.S.A.	Abortusu olmayan fertil grup
Akraba olan	37	15	52	5
Akraba olmayan	33	21	54	65

Tablo 4: Tekrarlayan Spontan Abortusu Olan (Primer ve Sekonder) ve Abortusu Olmayan Fertil Çiftlerin HLA Loküslerindeki Antijen Uygunlukları Yönünden Karşılaştırmaları

HLA Loküslerindeki Antijen Uygunluklarının Sayısı	P.T.S.A Grubu		S.T.S.A Grubu		Abortusu Olmayan Fertil Çift Grubu	
	Antijen Uygunluğu Olan Çift Sayısı ve Yüzdesi	Antijen Uygunluğu Olmayan Çift Sayısı ve Yüzdesi	Antijen Uygunluğu Olan Çift Sayısı ve Yüzdesi	Antijen Uygunluğu Olmayan Çift Sayısı ve Yüzdesi	Antijen Uygunluğu Olan Çift Sayısı ve Yüzdesi	Antijen Uygunluğu Olmayan Çift Sayısı ve Yüzdesi
HLA-A Loküsü						
0	30/70 (%42.8)	40/70 (%57.2)	17/36 (%47.2)	19/36 (%52.8)	51/70 (%72.8)	19/70 (%27.1)
1	32/70 (%45.8)	38/70 (%54.2)	19/36 (52.8)	17/36 (%47.2)	18/70 (%25.7)	62/70 (%88.5)
2	8/70 (%11.4)	62/70 (%88.6)	0/36 (%0)	36/36 (%100)	1/70 (%1.5)	69/70 (%98.5)
HLA-B Loküsü						
0	42/70 (%60.1)	38/70 (%54.3)	31/36 (%86.2)	5/36 (%13.8)	52/70 (%74.2)	18/70 (%25.7)
1	26/70 (%37.1)	54/70 (%77.1)	5/36 (%13.8)	31/36 (%86.2)	18/70 (%25.8)	52/70 (%74.2)
2	2/70 (%2.8)	68/70 (%97.2)	0/36 (%0)	36/36 (%100)	0/70 (%0)	70/70 (%100)
HLA-A+B						
0	21/70 (%30)	49/70 (%70)	13/36 (%36.1)	23/36 (%63.8)	41/70 (%58.5)	29/70 (%41.4)
1	26/70 (%37.1)	44/70 (%62.8)	22/36 (%61.2)	14/36 (%38.8)	21/70 (%30)	49/70 (%70)
2	17/70 (%24.2)	53/70 (%75.7)	0/36 (%0)	36/36 (%100)	8/70 (%11.4)	62/70 (%88.5)
3	6/70 (%8.7)	64/70 (%91.4)	1/36 (%2.7)	35/36 (%97.2)	0/70 (%0)	70/70 (%100)
4	0/70 (%0)	70/70 (%100)	0/36 (%0)	36/36 (%100)	0/70 (%0)	70/70 (%100)
HLA-DR Loküsü						
0	24/70 (34.2)	56/70 (%80.0)	9/36 (%25.0)	27/36 (%75.0)	46/70 (%65.7)	24/70 (%34.2)
1	36/70 (%51.4)	34/70 (%48.6)	23/36 (%63.9)	13/36 (%36.1)	23/70 (%32.9)	47/70 (%67.1)
2	10/70 (%14.4)	60/70 (%85.6)	4/36 (%11.1)	32/36 (%88.9)	1/70 (%1.5)	69/70 (%98.5)

Table 4: (Devam) Tekrarlayan Spontan Abortusu Olan (Primer ve Sekonder) ve Abortusu Olmayan Fertil Çiftlerin HLA Loküslerindeki Antijen Uygunlukları Yönünden Karşılaştırılmaları

HLA-DQ Loküsü						
0	40/70 (%57.2)	30/70 (%42.8)	22/36 (%61.1)	14/36 (%38.9)	55/70 (%78.5)	15/70 (%21.4)
1	29/70 (%41.4)	41/70 (%58.6)	13/36 (%36.1)	23/36 (%63.9)	15/70 (%21.5)	55/70 (%78.5)
2	1/70 (%1.4)	69/70 (%98.6)	1/36 (%2.8)	35/36 (%97.3)	0/70 (%0)	70/70 (%100)
HLA-DR+DQ						
0	14/70 (%20)	56/70 (%80)	6/36 (%16.6)	30/36 (%77.7)	38/70 (%54.3)	32/70 (%45.7)
1	27/70 (%38.5)	43/70 (%61.4)	17/36 (%47.2)	19/36 (%52.7)	25/70 (%35.7)	45/70 (%64.2)
2	24/70 (%34.2)	46/70 (%65.7)	11/36 (%30.6)	25/36 (%69.4)	7/70 (%10)	63/70 (%90)
3	5/70 (%7.3)	65/70 (%92.8)	1/36 (%2.8)	35/36 (%97.2)	0/70 (%0)	70/70 (%100)
4	0/70 (%0)	70/70 (%100)	1/36 (%2.8)	35/36 (%97.2)	0/70 (%0)	70/70 (%100)
HLA- A+B+DR+DQ						
0	6/70 (%8.57)	64/70 (%91.4)	4/36 (%11.1)	32/36 (%88.9)	22/70 (%31.6)	48/70 (%68.4)
1	14/70 (%18.5)	57/70 (%81.5)	8/36 (%22.2)	28/36 (%77.8)	27/70 (%38.5)	43/70 (%61.5)
2	17/70 (%24.2)	53/70 (%75.8)	14/36 (%38.8)	22/36 (%61.2)	13/70 (%18.5)	57/70 (%81.5)
3	21/70 (%30)	49/70 (%70)	7/36 (%19.6)	29/36 (%80.4)	8/70 (%11.4)	62/70 (%88.5)
4	6/70 (%8.57)	64/70 (%91.4)	3/36 (%8.3)	33/36 (%91.7)	0/70 (%0)	70/70 (%100)
5	6/70 (%8.57)	64/70 (%91.4)			0/70 (%0)	70/70 (%100)
6	0/70 (%0)	70/70 (%100)			0/70 (%0)	70/70 (%100)

Tablo 5: P.T.S.A Grubu İle Abortusu Olmayan Fertil Çift Grubunun HLA Loküslerindeki Antijen Uygunlukları Yönünden İstatistiksel Olarak Karşılaştırılması

HLA-A Loküsü	x2 değeri	p değeri*	Anlamlılık
Uygun Antijen Sayıları			
0	11,71	0,000	Anlamlı
1	8,03	0,004	Anlamlı
2	4,27	0,038	Anlamlı
HLA-B Loküsü			
Uygun Antijen Sayıları			
0	6,67	0,009	Anlamlı
1	0,53	0,474	Anlamlı değil
2	0,50	0,476	Anlamlı değil
HLA-A+B			
Uygun Antijen Sayıları			
0	10,45	0,001	Anlamlı
1	0,51	0,474	Anlamlı değil
2	3,11	0,077	Anlamlı değil
3	4,35	0,036	Anlamlı
HLA-DR Loküsü			
Uygun Antijen Sayıları			
0	17,72	0,000	Anlamlı
1	4,21	0,039	Anlamlı
2	6,31	0,011	Anlamlı
HLA-DQ Loküsü			
Uygun Antijen Sayıları			
0	6,41	0,011	Anlamlı
1	5,60	0,017	Anlamlı
2	0	1	Anlamlı değil
HLA-DR+DQ			
Uygun Antijen Sayıları			
0	16,18	0,000	Anlamlı
1	0,03	0,861	Anlamlı değil
2	10,60	0,001	Anlamlı
3	3,31	0,068	Anlamlı değil
HLA-A+B+DR+DQ			
Uygun Antijen Sayıları			
0	10,04	0,001	Anlamlı
1	9,38	0,002	Anlamlı
2	1,04	0,306	Anlamlı değil
3	6,26	0,012	Anlamlı
4	4,35	0,036	Anlamlı
5	4,35	0,036	Anlamlı

*: $p < 0,05$ anlamlı kabul edilmiştir.

Tablo 6: S.T.S.A Grubu İle Abortusu Olmayan Fertil Çift Grubunun HLA Loküslerindeki Antijen Uygunlukları Yönünden İstatistiksel Olarak Karşılaştırılması

HLA-A Loküsü	χ^2 değeri	p değeri*	Anlamlık
Uygun Antijen Sayıları			
0	5,72	0,016	Anlamlı
1	9,13	0,002	Anlamlı
2	0,11	0,733	Anlamlı değil
HLA-B Loküsü			
Uygun Antijen Sayıları			
0	1,32	0,250	Anlamlı değil
1	1,32	0,250	Anlamlı değil
HLA A+B			
Uygun Antijen Sayıları			
0	3,94	0,047	Anlamlı
1	8,29	0,003	Anlamlı
2	2,96	0,085	Anlamlı değil
3	0,11	0,733	Anlamlı değil
HLA-DR loküsü			
Uygun Antijen Sayıları			
0	12,61	0,000	Anlamlı
1	8,09	0,004	Anlamlı
2	3,03	0,081	Anlamlı değil
HLA-DQ loküsü			
Uygun Antijen Sayıları			
0	2,82	0,093	Anlamlı değil
1	1,93	0,164	Anlamlı değil
2	0,10	1,744	Anlamlı değil
HLA DR+DQ			
Uygun Antijen Sayıları			
0	11,12	0,000	Anlamlı
1	0,87	0,348	Anlamlı değil
2	5,74	0,16	Anlamlı
3	0,11	0,733	Anlamlı değil
4	0,11	0,733	Anlamlı değil
HLA A+B+DR+DQ			
Uygun Antijen Sayıları			
0	4,26	0,039	Anlamlı
1	4,10	0,042	Anlamlı
2	5,91	0,015	Anlamlı
3	0,68	0,408	Anlamlı değil
4	3,35	0,066	Anlamlı değil

*: $p < 0,05$ anlamlı kabul edilmiştir.

Tablo 7: T.S.A (Primer ve Sekonder) Grubu İle Abortusu Olmayan Fertil Çift Grubunun HLA Loküslerindeki Antijen Uygunlukları Yönünden İstatistiksel Olarak Karşılaştırılması

HLA-A Loküsü	x2 değeri	p değeri*	Anlamlılık
Uygun Antijen Sayıları			
0	12,76	0,000	Anlamlı
1	11,74	0,000	Anlamlı
2	2,11	0,145	Anlamlı değil
HLA-B Loküsü			
Uygun Antijen Sayıları			
0	2,06	0,150	Anlamlı değil
1	0,11	0,734	Anlamlı değil
HLA A+B			
Uygun Antijen Sayıları			
0	11,04	0,003	Anlamlı
1	3,51	0,060	Anlamlı değil
2	0,40	0,524	Anlamlı değil
3	3,24	0,071	Anlamlı değil
HLA-DR Loküsü			
Uygun Antijen Sayıları			
0	23,31	0,000	Anlamlı
1	7,91	0,004	Anlamlı
2	6,06	0,013	Anlamlı
HLA-DQ loküsü			
Uygun Antijen Sayıları			
0	6,75	0,009	Anlamlı
1	5,56	0,018	Anlamlı
2	0,18	0,667	Anlamlı değil
HLA-DR+DQ			
Uygun Antijen Sayıları			
0	21,58	0,000	Anlamlı
1	0,37	0,539	Anlamlı değil
2	11,06	0,000	Anlamlı
3	2,56	0,109	Anlamlı değil
4	0,04	0,834	Anlamlı değil
HLA A+B+DR+DQ			
Uygun Antijen Sayıları			
0	12,27	0,000	Anlamlı
1	10,63	0,001	Anlamlı
2	3,57	0,048	Anlamlı
3	4,03	0,026	Anlamlı
4	4,63	0,031	Anlamlı
5	2,56	0,109	Anlamlı değil

*: p < 0,05 anlamlı kabul edilmiştir.

Tablo: 8: P.T.S.A Grubundaki Eşlerin Akrabalık Durumlarına Göre HLA Loküslerindeki Antijen Uygunluklarının Karşılaştırılması

HLA-A Loküsündeki Uygun Antijen Sayısı					x2 değeri	p* değeri
	0	1	2	Toplam		
Akraba Olan Çiftler	12 (%32.4)	22 (%59.5)	3 (%8.1)	37 (%52.9)	5,9909	0,0500
Akraba Olmayan Çiftler	18 (%54.5)	10 (%30.3)	5 (%15.2)	33 (%47.1)		
Toplam	30 (%42.9)	32 (%45.7)	8 (%11.4)	70 (%100)		
HLA-B Loküsündeki Uygun Antijen Sayısı					x2 değeri	p* değeri
	0	1	2	Toplam		
Akraba Olan Çiftler	20 (%54.1)	16 (%43.2)	1 (%2.7)	37 (%52.9)	2,16708	0,3384
Akraba Olmayan Çiftler	22 (%66.7)	9 (%27.3)	2 (%6.1)	33 (%47.1)		
Toplam	42 (%60)	25 (%35.7)	3 (%4.3)	70 (%100)		
HLA-DR Loküsündeki Uygun Antijen Sayısı					x2 değeri	p* değeri
	0	1	2	Toplam		
Akraba Olan Çiftler	7 (%18.9)	22 (%59.5)	8 (%21.6)	33 (%52.9)	9,34639	0,0093
Akraba Olmayan Çiftler	17 (%51.5)	14 (%42.4)	2 (%6.1)	33 (%47.1)		
Toplam	24 (%34.3)	36 (%51.4)	10 (%14.3)	70 (%100)		
HLA-DQ Loküsündeki Uygun Antijen Sayısı					x2 değeri	p* değeri
	0	1	2	Toplam		
Akraba Olan Çiftler	18 (%48.6)	18 (%48.6)	1 (%2.2)	37 (%52.9)	2,20941	0,3313
Akraba Olmayan Çiftler	21 (%63.6)	12 (%36.4)		33 (%47.1)		
Toplam	39 (%55.7)	30 (%42.9)	1 (%1.4)	70 (%100)		

*: p < 0,05 anlamı kabul edilmiştir.

Tablo 9: P.T.S.A Grubundaki Eşlerin Akrabalık Durumlarına Göre HLA Loküslerindeki Antijenlerin Total Antijen Uygunluğu Yönünden Karşılaştırılması

Antijen Uygunlukları	0	1	2	3	4	5	Toplam	x2 değeri	p* değeri
Akraba Olan Çiftler	1 (%2.7)	6 (%16.2)	10(%27)	9 (%24.3)	5 (%13.5)	6 (%16.2)	37 (%52.9)	12,38891	0,0298
Akraba Olmayan Çiftler	5 (%15.2)	8 (%24.2)	7(%21.2)	12 (%36.4)	1 (%3)		33 (%47.1)		
Toplam	6 (%8.6)	14 (%20)	17 (%24.3)	21 (%30)	6 (%8.6)	6 (%8.6)	70 (%100)		

*: $p < 0,05$ anlamlı kabul edilmiştir.

Tablo 10: P.T.S.A. Grubundaki Eşler Arasında HLA Loküslerinde Uygun Olarak Saptanan Antijenler

HLA-A Loküsü														
	A1	A2	A3	A9	A10	A11	A28	A33						
Olgu Sayısı	5	18	6	9	2	6	1	1						
HLA-B Loküsü														
	B5	B7	B8	B13	B16	B17	B18	B21	B35	B40	B44	B47	B50	B51
Olgu Sayısı	5	1	2	1	6	2	1	1	8	1	1	1	2	2
HLA-DR Loküsü														
	DR1	DR2	DR3	DR4	DR5	DR6	DR7							
Olgu Sayısı	4	9	9	8	18	3	4							
HLA-DQ Loküsü														
	DQ1	DQ2	DQ3											
Olgu Sayısı	18	6	8											

Tablo 11: S.T.S.A Grubundaki Eşlerin Akrabalık Durumlarına Göre HLA Loküslerindeki Antijen Uygunluklarının Karşılaştırılması

HLA-A Loküsündeki Uygun Antijen Sayısı					x2 değeri	p* değeri
	0	1	2	Toplam		
Akraba Olan Çiftler	8 (%53.3)	7 (%46.7)		15 (%41.7)	0,7961	0,7778
Akraba Olmayan Çiftler	9 (%42.9)	12 (%57.1)		21 (%58.3)		
Toplam	17 (%47.2)	7 (%46.7)		36 (%100)		
HLA-B Loküsündeki Uygun Antijen Sayısı					x2 değeri	p* değeri
	0	1	2	Toplam		
Akraba Olan Çiftler	12 (%80)	3 (%20)		15 (%41.7)	0,16590	0,6838
Akraba Olmayan Çiftler	19 (%90.5)	2 (%9.5)		21 (%58.3)		
Toplam	31 (%86.1)	5 (%13.9)		36 (%100)		
HLA-DR Loküsündeki Uygun Antijen Sayısı					x2 değeri	p değeri
	0	1	2	Toplam		
Akraba Olan Çiftler	4 (%26.7)	9 (%60)	2 (%13.3)	15 (%41.7)	0,20373	0,9032
Akraba Olmayan Çiftler	5 (%23.8)	14 (%66.7)	2 (%9.5)	21 (%58.3)		
Toplam	24 (%34.3)	36 (%51.4)	10 (%14.3)	36 (%100)		
HLA-DQ Loküsündeki Uygun Antijen Sayısı					x2 değeri	p* değeri
	0	1	2	Toplam		
Akraba Olan Çiftler	11 (%73.3)	4 (%26.7)		11 (%52.4)	1,97802	0,3719
Akraba Olmayan Çiftler	11 (%52.4)	9 (%42.9)	1 (%4.8)	21 (%58.3)		
Toplam	22 (%61.1)	13 (%36.1)		36 (%100)		

*: $p < 0,05$ anlamlı kabul edilmiştir.

Tablo 12: S.T.S.A Grubundaki Eşlerin Akrabalık Durumlarına Göre HLA Loküslerindeki Antijenlerin Total Antijen Uygunluğu Yönünden Karşılaştırılması

Antijen Uygunlukları	0	1	2	3	4	Toplam	x2 değeri	p* değeri
Akraba Olan Çiftler	2 (%13.3)	4 (%26.7)	5(%33.3)	3 (%20)	1 (%6.7)	15 (%41.7)	0,63673	0,9589
Akraba Olmayan Çiftler	2 (%9.5)	4 (%19)	9(%42.9)	4 (%19)	2 (%9.5)	21 (%58.3)		
Toplam	4 (%11.1)	8 (%22.2)	14 (%38.9)	7 (%19.4)	3 (%8.3)	36 (%100)		

*: p < 0,05 anlamlı kabul edilmiştir.

Tablo 13: S. T. S. A. Grubundaki Eşler Arasında HLA Loküslerinde Uygun Olarak Saptanan Antijenler

HLA-A Loküsü						
	A1	A2	A9	A11		
Olgu Sayısı	6	7	5	1		
HLA-B Loküsü						
	B17	B35	B40	B51		
Olgu Sayısı	1	2	1	1		
HLA-DR Loküsü						
	DR2	DR3	DR4	DR5	DR7	DR9
Olgu Sayısı	6	5	6	7	4	1
HLA-DQ Loküsü						
	DQ1	DQ2	DQ3			
Olgu Sayısı	7	2	5			

TABLO 14: T.S.A Grubundaki (P.T.S.A.+ S.T.S.A.) Eşlerin Akrahlık Durumlarına Göre HLA Loküslerindeki Antijen Uygunluklarının Karşılaştırılması

HLA-A Loküsündeki Uygun Antijen Sayısı					x2 değeri	p* değeri
	0	1	2	Toplam		
Akraba Olan Çiftler	20 (%38.5)	29 (%55.8)	3 (%5.8)	52 (%49.1)	2,46648	0,2913
Akraba Olmayan Çiftler	27 (%50.5)	22 (%40)	5 (%9.3)	54 (%50.9)		
Toplam	47 (%44.3)	51 (%48.1)	8 (%7.5)	106 (%100)		
HLA-B Loküsündeki Uygun Antijen Sayısı					x2 değeri	p* değeri
	0	1	2	Toplam		
Akraba Olan Çiftler	32 (%61.5)	19 (%36.5)	1 (%1.9)	52(%49.1)	3,53978	0,1704
Akraba Olmayan Çiftler	41 (%75.9)	11(%20.4)	2 (%3.7)	54 (%50.9)		
Toplam	73 (%68.9)	30 (%28.3)	3(%2.8)	106(%100)		
HLA-DR Loküsündeki Uygun Antijen Sayısı					x2 değeri	p* değeri
	0	1	2	Toplam		
Akraba Olan Çiftler	11(%21.2)	31 (%59.6)	10(%19.2)	52 (%49.1)	6,35516	0,0417
Akraba Olmayan Çiftler	22 (%40.7)	28 (%51.9)	4 (%7.4)	54 (%50.9)		
Toplam	33 (%31.1)	59 (%55.7)	14 (%13.2)	106 (%100)		
HLA-DQ Loküsündeki Uygun Antijen Sayısı					x2 değeri	p* değeri
	0	1	2	Toplam		
Akraba Olan Çiftler	29 (%55.8)	22 (%42.3)	1 (%1.9)	52 (%49.1)	0,13311	0,9356
Akraba Olmayan Çiftler	32 (%59.3)	21 (%38.9)	1 (%1.9)	52 (%49.1)		
Toplam	61 (%57.5)	43 (%40.6)	2 (%1.9)	106 (%100)		

Tablo 15: T.S.A Grubundaki (P.T.TS.A + S.T.S.A.) Eşlerin Akrabalık Durumlarına Göre HLA Loküslerindeki Antijenlerin Total Antijen Uygunluğu Yöntünden Karşılaştırılması

Antijen Uygunlukları	0	1	2	3	4	5	Toplam	x2 değeri	p* değeri
Akraba Olan Çiftler	4 (%5.8)	10 (%19.2)	15(%28.8)	12 (%23.1)	6 (%11.5)	6 (%11.5)	52 (%49.1)	9,35110	0,0959
Akraba Olmayan Çiftler	7 (%13)	12 (%22.2)	16(%29.6)	16 (%29.6)	3 (%5.6)		54 (%50.9)		
Toplam	4 (%11.1)	8 (%22.2)	14 (%38.9)	7 (%19.4)	3 (%8.3)		36 (%100)		

TABLO 16: Abortusu Olmayan Fertil Gruptaki Eşlerin Akrabalık Durumlarına Göre HLA Loküslerindeki Antijen Uygunluklarının Karşılaştırılması

<i>HLA-A Loküsündeki Uygun Antijen Sayısı</i>					x2 değeri	p* değeri
	0	1	2	Toplam		
<i>Akraba Olan Çiftler</i>	3 (%60)	2 (%40)		5(%7.1)	0,62645	0,7311
<i>Akraba Olmayan Çiftler</i>	48(%73.8)	16 (%24.6)	1 (%1.5)	65 (92.9)		
<i>Toplam</i>	51 (%72.9)	18 (%25.7)	1 (%1.4)	70 (%100)		
<i>HLA-B Loküsündeki Uygun Antijen Sayısı</i>					x2 değeri	p* değeri
	0	1	2	Toplam		
<i>Akraba Olan Çiftler</i>	4 (%80)	1 (%20)		5(%7.1)	0,00000	1,0000
<i>Akraba Olmayan Çiftler</i>	49 (%75.4)	16 (%24.6)		65 (%92.9)		
<i>Toplam</i>	53 (%75.7)	17 (%24.3)		70(%100)		
<i>HLA-DR Loküsündeki Uygun Antijen Sayısı</i>					x2 değeri	p değeri
	0	1	2	Toplam		
<i>Akraba Olan Çiftler</i>	2 (%40)	3 (%60)		5 (%7.1)	1,82609	0,4013
<i>Akraba Olmayan Çiftler</i>	44 (%67.7)	20 (%30.8)	1 (%1.5)	65 (%92.9)		
<i>Toplam</i>	46 (%65.7)	23 (%32.9)	1 (%1.4)	70 (%100)		
<i>HLA-DQ Loküsündeki Uygun Antijen Sayısı</i>					x2 değeri	p* değeri
	0	1	2	Toplam		
<i>Akraba Olan Çiftler</i>	4 (%80)	1 (%20)		5 (%7.1)	1,82609	0,4013
<i>Akraba Olmayan Çiftler</i>	51 (%78.5)	14 (%21.5)		65 (%92.9)		
<i>Toplam</i>	55 (%78.6)	15 (%21.4)		70 (%100)		

Tablo 17: Abortusu Olmayan Fertil Çift Grubundaki Eşlerin Akrabalık Durumlarına Göre HLA Loküslerindeki Antijenlerin Total Antijen Uygunluğu Yönünden Karşılaştırılması

Antijen Uygunlukları	0	1	2	3	Toplam	x2 değeri	p* değeri
Akraba Olan Çiftler	2 (%40)	1 (%20)		2 (%40)	5 (%7.1)	5,45351	0,1414
Akraba Olmayan Çiftler	20 (%30.8)	26 (%40)	13 (%20)	6 (%9.2)	65 (%92.9)		
Toplam	22 (%31.4)	27 (%38.6)	13 (%18.6)	8 (%11.4)	70 (%100)		

Tablo 18: Abortusu Olmayan Fertil Çift Grubundaki Eşler Arasında HLA Loküslerinde Uygun Olarak Saptanan Antijenler

HLA-A Loküsü							
	A2	A32	A9	A10	A11		
Olgu Sayısı	8	1	8	2	1		
HLA-B Loküsü							
	B5	B18	B35	B51	B55		
Olgu Sayısı	6	1	7	1	2		
HLA-DR Loküsü							
	DR1	DR2	DR3	DR4	DR5	DR7	DR11
Olgu Sayısı	3	7	4	4	3	2	2
HLA-DQ Loküsü							
	DQ1	DQ2	DQ3				
Olgu Sayısı	7	3	5				

Tablo 19: Tekrarlayan Spontan Abortusu Olan (Primer, Sekonder) ve Abortusu Olmayan Fertil Çiftlerde HLA Loküslerindeki Antijen Sıklıkları

HLA A Loküsü	P.T.S.A. Çift Grubu		S.T.S.A. Çift Grubu		P.T.S.A. + S.T.S.A. Çift Grubu		Abortusu Olmayan Fertil Çift Grubu	
	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın
1	9 (%12.9)	20 (%28.6)	10 (%27.8)	11 (%30.6)	19 (%17.9)	31 (%29.2)	15 (%21.4)	18 (%25.7)
2	31 (%44.3)	28 (%40)	19 (%52.8)	15 (%42.7)	50 (%47.2)	43 (%40.6)	28 (%40)	28 (%40)
3	22 (%31.4)	16 (%22.9)	5 (%13.9)	6 (%16.7)	27 (%25.5)	22 (%20.8)	19 (%27.1)	9 (%12.9)
9	13 (%18.6)	12 (%17.1)	6 (%16.7)	7 (%19.4)	19 (%17.9)	19 (%17.9)	21 (%30)	20 (%28.6)
23	2 (%2.9)		2 (%5.6)	2 (%5.6)	4 (%3.8)	2 (%1.9)	4 (%5.7)	1 (%1.4)
24	18 (%25.7)	14 (%20)	7 (%19.4)	10 (%27.8)	25 (%23.6)	24 (%22.6)	17 (%24.3)	17 (%24.3)
10	7 (%10)	9 (%12.9)	5 (%13.9)	2 (%5.6)	12 (%11.3)	11 (%10.4)	9 (%12.9)	12 (%17.1)
25	1 (%1.4)				1 (%0.9)			
26	9 (%12.9)	7 (%10)	3 (%8.3)	2 (%5.6)	12 (%11.3)	9 (%8.5)	10 (%14.3)	13 (%18.6)
11	12 (%17.1)	18 (%25.6)	4 (%11.1)	4 (%11.1)	16 (%15.1)	22 (%20.8)	9 (%12.9)	10 (%14.3)
19	1 (%1.4)	1 (%1.4)			1 (%0.9)	1 (%0.9)		
28	6 (%8.6)	11 (%15.7)	1 (%2.8)	4 (%11.1)	7 (%6.6)	15 (%14.2)	3 (%4.3)	4 (%5.6)
29	2 (%2.9)	2 (%2.9)	1 (%2.8)	1 (%2.8)	3 (%2.8)	3 (%2.8)	7 (%10.1)	5 (%7.1)
30	11 (%15.7)	4 (%5.7)	4 (%11.1)	4 (%11.1)	15 (%14.2)	8 (%7.5)	5 (%7.1)	4 (%5.7)
31	2 (%2.9)	2 (%2.9)		2 (%5.6)	2 (%1.9)	4 (%3.8)	4 (%5.7)	1 (%1.4)
32	1 (%1.4)	2 (%2.9)	1 (%2.8)	1 (%2.8)	2 (%1.9)	3 (%2.8)		4 (%5.7)
33	2 (%2.9)	1 (%1.4)			2 (%1.9)	1 (%0.9)		

Tablo 20: Tekrarlayan Spontan Abortusu Olan (Primer, Sekonder) ve Abortusu Olmayan Fertil Çiftlerde HLA Loküslerindeki Antijen Sıklıkları

HLA B Loküsü	P.T.S.A. Çift Grubu		S.T.S.A.Çift Grubu		P.T.S.A. + S.T.S.A Çift Grubu		Abortusu Olmayan Fertil Çift Grubu	
	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın
5	13 (%18.6)	16 (%22.9)	12 (%33.3)	5 (%13.9)	25 (%23.6)	21 (%19.8)	17 (%24.3)	15 (%21.4)
7	2 (%2.9)	3 (%4.3)	2 (%5.6)	2 (%5.6)	4 (%3.8)	5 (%4.7)	5 (%7.1)	5 (%7.1)
8	3 (%4.3)	10 (%14.3)	2 (%5.6)	5 (%13.9)	5 (%4.7)	15 (%14.2)	8 (%11.4)	11 (%15.7)
12	9 (%12.9)	6 (%8.6)	4 (%11.1)	6 (%16.7)	13 (%12.3)	12 (%11.3)	9 (%12.9)	11 (%15.7)
13	7 (%10)	5 (%7.1)	2 (%5.6)	3 (%8.3)	9 (%8.5)	8 (%7.5)	4 (%5.7)	4 (%5.7)
14	2 (%2.9)	2 (%2.9)			2 (%1.9)	2 (%1.9)	3 (%4.3)	3 (%4.3)
15	4 (%5.7)	2 (%2.9)	2 (%5.6)	2 (%5.6)	6 (%5.7)	4 (%3.8)	4 (%5.6)	4 (%5.7)
16	9 (%12.9)	5 (%7.1)	4 (%11.1)	2 (%5.6)	13 (%12.3)	7 (%6.6)	9 (%12.9)	5 (%7.1)
17	7 (%10)	3 (%4.3)	5 (%13.9)	5 (%13.9)	12 (%11.3)	8 (%7.5)	2 (%2.9)	3 (%4.3)
18	4 (%5.7)	6 (%8.6)	1 (%2.8)		5 (%4.7)	6 (%5.7)	1 (%1.4)	4 (%5.7)
21	1 (%1.4)	2 (%2.9)	4 (%11.1)	3 (%8.3)	5 (%4.7)	5 (%4.7)	6 (%8.6)	5 (%7.1)
22	1 (%1.4)	1 (%1.4)			1 (%0.9)	1 (%0.9)	6 (%8.6)	5 (%7.1)
27	3 (%4.3)	5 (%7.1)	4 (%11.1)	6 (%16.7)	7 (%6.6)	11 (%10.4)	6 (%8.6)	5 (%7.1)
35	23 (%32.9)	26 (%37.1)	8 (%22.2)	13 (%36.1)	31 (%29.2)	39 (%36.8)	23 (%32.9)	21 (%30)
38	7 (%10)	8 (%11.4)	1 (%2.8)	3 (%8.3)	8 (%7.5)	11 (%10.4)	3 (%4.3)	6 (%8.6)
39	1 (%1.4)		3 (%8.3)		4 (%3.8)		3 (%4.3)	
40	82 (%11.4)	5 (%7.1)	6 (%16.7)	3 (%8.3)	14 (%13.2)	8 (%0.9)	6 (%18.6)	2 (%2.9)
41				1 (%2.8)		1 (%0.9)	1 (%1.4)	2 (%2.9)
44	10 (%14.3)	7 (%10)	6 (%16.7)	5 (%13.9)	16 (%15.1)	12 (%11.3)		10 (%14.3)
47	2 (%2.9)	1 (%1.4)			2 (%1.9)	1 (%0.9)		1 (%1.4)
49	1 (%1.4)		2 (%5.6)	2 (%2.6)	3 (%2.8)	2 (%1.9)	6 (%8.6)	4 (%4.6)
50	1 (%1.4)	2 (%2.9)	1 (%2.8)		2 (%1.9)	2 (%1.9)	1 (%1.4)	1 (%1.4)
51	11 (%15.7)	15 (%21.4)	7 (%19.4)	4 (%11.1)	18 (%17)	19 (17.9)	14 (%20)	14 (%20)
52		1 (%1.4)				1 (%0.9)	4 (%5.7)	
55	1 (%1.4)				1 (%0.9)		2 (%2.9)	5 (%7.1)
57								1 (%1.4)
58								1 (%1.4)
62	2 (%2.9)				2 (%1.9)			2 (%2.9)

Tablo 21: Tekrarlayan Spontan Abortusu Olan (Primer, Sekonder) ve Abortusu Olmayan Fertil Çiftlerde HLA Loküslerindeki Antijen Sıklıkları

HLA-DR Loküsü	P.T.S.A. Çift Grubu		S.T.S.A.Çift Grubu		P.T.S.A. + S.T.S.A Çift Grubu		Abortusu Olmayan Fertil Çift Grubu	
	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın
1	14 (%20)	9 (%12.9)	6 (%16.7)	1 (%2.8)	20 (%18.9)	10(%9.4)	15(%21.4)	13 (%18.6)
2	18 (%25.7)	17 (%24.3)	15 (%42.7)	9 (%25)	33 (%31.1)	26 (%24.5)	19 (%25.1)	20 (%28.6)
3	20 (%28.6)	19 (%27.1)	12 (%33.3)	7 (%19.4)	32 (%30.2)	26 (%24.5)	15 (%21.4)	19 (%27.1)
4	16 (%22.9)	27 (%38.6)	13 (%36.1)	16 (%44.4)	29 (%27.4)	43 (%40.6)	18 (%25.7)	23 (%32.9)
5	34 (%48.9)	33 (%47.1)	10 (%27.8)	19 (%52.8)	44 (%41.5)	52 (%49.1)	27 (%38.6)	19 (%27.1)
6	2 (%2.9)	1 (%1.4)			2 (%1.9)	1(%0.9)	2(%2.9)	2 (%2.9)
7	14 (%20)	18 (%25.7)	11 (%30.6)	8 (%22.2)	25 (%23.6)	26 (%24.5)	13 (%18.6)	13 (%18.6)
8							1 (%1.4)	1 (%1.4)
9	7 (%10)	7 (%10)	2 (%5.6)	4 (%11.1)	9 (%8.5)	11 (%10.4)	4 (%5.7)	6 (%8.6)
10					3 (%2.8)		6 (%8.6)	1 (%1.4)
11	2 (%2.9)	2 (%2.9)	1 (%2.8)	1 (%2.8)	3 (%2.8)	3 (%2.8)	17 (%24.3)	15 (%21.4)
13							2 (%2.9)	1 (%1.4)
14								2 (%2.9)
15							1 (%1.4)	1 (%1.4)
17								1 (%1.4)
HLA-DQ Loküsü								
Antijenler								
1	29 (%41)	22 (%31.4)	15 (%41.7)	13 (%36.1)	44 (%41.5)	35 (%33)	18 (%25.7)	12 (%17.1)
2	14 (%20)	18 (%25.7)	4 (%11.1)	7 (%19.4)	18 (%17)	25(%23.6)	14(%20)	17 (%24.3)
3	11 (%15.7)	12 (%17.1)	8 (%22.2)	6 (%16.7)	19 (%17.9)	18 (%17)	16 (%22.9)	14 (%20)

T A R T I Ő M A

Tekrarlayan abortus olguları popülasyonda % 1 sıklıkta görülmekte(22,93), kadın-doğum ve tıbbi genetik polikliniklerine başvuran olguların önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Anatomik, genetik, enfeksiyöz ve endokrinolojik faktörlerin abortusların ancak % 50 kadarında etyolojiyi açıklayabildiği geride kalan etyolojisi açıklanamayan grupta immünolojik faktörlerin(22,41,94) ve bilinmeyen bazı sebeplerin rol oynadığı düşünülmektedir.

Abortus'a neden olan etyolojik faktörler araştırılırken immünolojik faktörler arasında önemli yeri olduğu kabul edilen HLA doku gruplarının tayin edilmesi gerektiği belirtilmektedir(9,41,44,93,102).

Materyal bölümünde anlatıldığı şekilde kontrol grubunu oluşturan eşlerde ve çalışma grubunu oluşturan TSA (Tekrarlayan Spontan abortus)'lu eşlerde abortusa neden olabilecek diğer etyolojik faktörler ekarte edildikten sonra HLA doku grupları tayin edildi.

Çalışma ve kontrol grubunu oluşturan olguların yaş dağılımı tablo 1'de görülmektedir.

Çalışma grubundaki olguların abortus sayısına göre dağılımı Tablo 2'de verilmektedir; PTSA (Primer tekrarlayan spontan abortus)'lu grup-

ta en az abortus sayısı 2, en fazla abortus sayısı 8, STSA (Sekonder tekrarlayan spontan abortus)'lu grupta en az abortus sayısı 2, en fazla abortus sayısı 4 idi.

PTSA'lu grupta 70 kadın toplam 209 adet

STSA'lu grupta 36 kadın toplam 91 adet abortus yapmıştı. Her iki gruptaki abortuslar 1. trimestr abortusu idi.

Çalışma grubundaki eşler arasında kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiki olarak anlamlı akrabalık saptandı (Tablo 3). Akrafa evliliklerinin büyük bölümü kardeş çocukları arasındaydı.

Transplantasyonda alıcı verici arasında HLA uygunluğu olması gerekirken anne, baba ve fetüs arasında böyle bir uygunluğun gerekmediği bilinmektedir(44). Yapılan birçok çalışmada abortusu olan eşler arasında HLA antijenleri uygunluğunun abortusu olmayan, çocuklu eşlere göre fazla olduğu bildirilmekte ve bunun gebeliğin sürmesi için olumsuz bir faktör olduğu iddia edilmektedir(22,37,44).

Eşler arasındaki HLA uygunluğunun abortusa hangi mekanizmalarla sebep olduğu genel bilgiler bölümünde ayrıntılı olarak anlatılmıştır(2,10,15,16,70,71).

Çalışmamızda, grupları oluşturan eşlerin HLA loküslerindeki antijenler arasındaki uygunluklarını, belli bir antijenin daha sık görülüp görülmediğini, akrabalık ilişkilerininide gözönüne alarak inceledik.

PTSA'lu grup kontrol grubu ile HLA loküslerindeki antijen uygunlukları yönünden karşılaştırıldığında (Tablo 5) PTSA'lu grupta kontrol grubu arasında HLA-B loküsü antijenleri uygunluğu açısından fark görülmedi. Fakat HLA-A, HLA-DR, HLA-DQ loküslerinde 1 ve 2 antijen uygunluğu, ayrıca bütün HLA loküslerindeki toplam antijen uygunluğu(1,2,3,4,5 uygunluk) PTSA'lu grupta istatistiki olarak anlamlı olacak şekilde fazla idi. Bu bulgular Mc Intyre ve arkadaşlarının bulguları ile

büyük ölçüde paralellik göstermektedir(68). Bizim çalışmamızda o çalışmadan farklı olarak HLA-B loküsü antijenleri arasında uygunluk bulunmamıştır. HO-HN ve arkadaşlarıda yaptıkları çalışmalarda(51,52) benzer sonuçlar elde etmişlerdir.

STSA'lu grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında (Tablo 6) HLA-B ve DQ loküsü antijenleri uygunluğu açısından fark görülmedi. HLA-A, HLA-DR loküsü antijenleri açısından 1 uygunluk, toplam antijen uygunluğu(1,2 uygunluk) istatistiki olarak anlamlı olacak şekilde STSA'lu çalışma grubunda fazla bulundu, bu bulgular literatür bulgulari ile paraleldi(51,52,68).

STSA'lu grupta HLA antijenleri uygunluğu PTSA'lu eşlere göre daha az bulundu.

PTSA'lu ve STSA'lu eşler birlikte değerlendirildiğinde (TSA grubu) ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında (Tablo 7). HLA-A loküsünde 1 Antijen uygunluğu HLA-DR loküsünde 2 antijen uygunluğu HLA-DQ loküsünde 1 antijen uygunluğu ve total antijen uygunluğu açısından değerlendirildiğinde de 1,2,3,4 antijen uygunluğu TSA'lu grupta anlamlı olacak şekilde fazla idi.

Eşler arasında hangi antijenlerin daha fazla olarak uygun olup olmadığı araştırıldığında PTSA'lu grupta HLA-A2, HLA-DQ1, HLA-DR5 antijenleri uygunluğu fazla olarak saptandı (Tablo 10).

STSA'lu grupta ve kontrol grubunda bu yönden bir anlamlılık tespit edilmedi.

Abortuslu olgularda abortusların hep 1. trimestr içinde görülmesi literatür bilgisi ile uyumlu bulundu(22,75). Eşler arasında HLA loküslerindeki antijenlerin uygunluğu arttıkça gebeliğin erken dönemindeki gebelik kayıplarının arttığı, kontrasepsiyon uygulamayan çiftlerde doğum aralıklarının uzadığı gözlenmiştir(22).

Eşler arasındaki fazla HLA loküs antijenleri uygunluğunun abortusa eğilim yarattığını düşündüren çok sayıda çalışma yanında(29,53,54,59,60), bunun önemli bir rolü olmadığını(6), minimal rolü olduğunu(28) iddia eden yayınlar vardır.

TSA' u olan kadınların yarısından fazlasının eşleriyle 2 veya daha fazla antijen paylaştığının tespit edildiği bir çalışmada(61) immunoterapiyi takiben gebelik başarı hızlarının HLA uygunluğu olmayan eşlerden farklı olmadığı iddia edilmektedir. Fakat HLA uygunluğu olan eşlerde immünizasyon tedavisi ile başarılı gebelikler elde edildiğini(1,56,85,93) bu nedenle eşler arasındaki HLA uygunluğunun abortusların etyolojisinde rol oynayan önemli bir alloimmün faktör olduğunu iddia eden çalışmalar mevcuttur.

BAUO (Bazal antijen uygunluğu oranı)'nın PTSA' lu olgularda özellikle HLA-DR ve HLA-DQ loküsü antijenlerinde belirgin olarak fazla bulunduğu bir çalışmada(62) elde edilen bulgular bizim bulgularımızla paraleldir, bu çalışmada toplumdaki kişilerden elde edilen HLA spesifitelelerinin frekanslarının kaydedilmesi ile elde edilen BAUO' nun HLA uygunluğunun tespiti için faydalı bir parametre olduğu belirtilmektedir.

Klas I ve Klas II HLA antijenleri immünitede rolü olan hücre yüzey antijenleridir. Klas II HLA antijenlerinin IR (immun response = immün cevap) olayında da rolleri vardır. Organizmanın yabancı bir antijene cevap verme yeteneği bu şekilde gerçekleşir.

Normal şartlarda gestasyonel siklus boyunca plasental dokunun klas II HLA antijenlerini ekspresse etmediği iddia edilmektedir. Bu fenomenin fetal yaşam için önemi henüz ortaya konmamıştır. Gebelik sırasında Klas II HLA antijenlerini ekspresse eden bir faktör kardiyak ve renal graft rejeksiyonuna ve abortusa neden olur. TSA' lu olgularda Klas II HLA antijenlerinin ekspresyonuna neden olan bir faktör abortus' a neden olabilir. Murin plasentasında Klas II HLA antijenlerinin ekspresyonuna neden olan 5 azacytidin kullanımı ile fetal abortus oluşturulmuştur(4).

Çalışma ve kontrol gruplarında eşler arasında akrabalık olup olmamasına göre HLA loküslerindeki antijen uygunlukları değerlendirildiğinde PTSA'lu grupta akraba olan eşler arasında HLA-A, DR, DQ loküslerindeki 1-2 antijen uygunluğu (tablo 8) ve bütün loküslerdeki total antijen uygunluğu(1,2,3,4,5 uygunluk) (tablo 9) istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde fazla bulundu.

STSA'lu grupta tek tek loküslerde (tablo 11) ve bütün loküslerdeki total antijen uygunluğu (tablo 12) açısından akraba olan ve olmayan eşler arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

Her iki grup birlikte değerlendirildiğinde (Tablo 14) TSA'lu gruptaki akraba olan eşler arasında sadece HLA-DR loküsü antijenleri uygunluğu akraba olmayan eşlere göre fazla bulundu. Total antijen uygunluğu açısından fark bulunmadı (Tablo 15).

Kontrol grubunu oluşturan abortusu olmayan fertil çiftlerde de akraba olan ve olmayan eşler arasında gerek tek tek loküslerdeki (Tablo 16) gerekse bütün loküslerdeki total antijen uygunluğu (Tablo 17) açısından fark tespit edilmedi.

Özellikle PTSA grubundaki eşler arasında akrabalık ilişkisinin STSA'lu gruba ve kontrol grubuna göre fazla olması ve PTSA'lu gruptaki akraba olan eşler arasında HLA loküslerindeki antijen uygunluklarının fazla olması akrabalık-HLA ve abortus arasında bir ilişki olduğunu düşündürmektedir. HLA loküsündeki abortusla ilişkili resesif genlerin abortus'a eğilim yarattığını iddia eden bir çalışmada(51) abortusların sık görüldüğü, HLA antijenleri uygunluğunun fazla olduğu ailelerde resesif genlerin segregasyonlarının normal fertil çiftlere göre fazla olabileceği düşünülmüş, bu ailelerde gestasyonel trofoblastik tümörlere de sık rastlandığı belirtilmiştir. Sonuç olarak HLA ile ilgili resesif genlerin fetüs gelişimi ve kansere eğilimi etkilediği iddia edilmiştir.

Bizim çalışmamızda da özellikle akraba olan, HLA uygunluğunun fazla olduğu eşlerde abortusun sık görülmesi abortusla ilgili resesif genleri akla getirmektedir. Fakat biz trofoblastik tümör gelişimi ile ilgili bir bulgu elde etmedik.

Tekrarlayan abortuslara eğilimin, HLA loküslerindeki genler tarafından belirlenen kalıtsal bir durum olabileceği düşünülmekte(73) ve bu veriler kadınlarda HLA'ya bağlı "Spontan abortus duyarlılık bölgesi" (SASR) tarafından kontrol edilen bir bölgenin varlığını düşündürmektedir(29).

Abortuslu kadınların ailelerinde yapılan haplotip çalışmalarında probandla aynı haplotipi paylaşan kızkardeşlerde de abortus fazla görülmüştür(29,73). Buda kalıtsal bir faktörü akla getirmektedir. Bizim çalışmamızda bu yönden bir bulgu elde edilmedi.

Tekrarlayan düşüklere olan ailelerde HLA segresyonlarının araştırıldığı çalışmalarda HLA antijenleri anneye uygun olan döllerin frekansı azalmış olarak tespit edilmiş(54) ve homozigot fetüslerin HLA uyumlu olduğu ve elimine olma şanslarının fazla olduğu belirtilmiştir(75).

Bu bulgularda erken dönemlerdeki gebelik kayıplarının HLA uygunluğu ile ilişkili olduğunu destekler niteliktedir.

TSA' u olan eşlerin oluşturduğu ailelerde haplotip analizlerinin yapıldığı bir çalışmada(64) TSA' u olan çiftlerin kontrol grubuna göre belirgin fazla HLA paylaşımına sahip oldukları tespit edilmiştir. Benzer bir çalışmada(79) eşler arasında HLA uygunluğu fazla bulunmuş fakat bu gen frekansı ülke nüfusunun gen frekansı ile karşılaştırılmış anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Paternal-maternal-fetal HLA uygunluğu olan gebeliklerde otoimmün hastalıkların alevlenebileceği belirtilmektedir(75). Fakat çalışma grubumuzdaki olgularda böyle bir durumla karşılaşılmadı.

TSA' u olan eşlerde belli HLA antijenlerinin sık görüldüğünü iddia eden çalışmalar mevcuttur. Bir çalışmada HLA-A7, A9, HLA-DR5 sıklığı fazla bulunmuştur(51,97).

HLA-DR5 sıklığını fazla bildiren bir çalışma(89) ve HLA-A3, HLA-B7-B18 ve HLA-DR5 sıklığının fazla olduğunu bildiren çalışmalar vardır(60,61).

Bizim çalışmamızdaki çalışma ve kontrol gruplarının HLA loküslerinde tespit edilen antijenler, 19-20 ve 21'de görülmektedir.

Sadece PTSA grubunda HLA-A2, HLA-DR5, HLA-DQ1 antijenleri sıklığı kontrol grubuna göre anlamlı olacak şekilde fazla bulunmuştur. Fakat bu antijenler popülasyonda zaten yüksek sıklıkta görülen antijenlerdir. HLA DR-R5 (+) olan kişilerde otoimmün hastalıklara sık rastlandığı belirtilmekte bu hastalarda ACL antikardiyolipin antikorlarının da sık görüldüğüne işaret edilerek HLA-DR genlerinin spesifik oto antikor üretimini kontrol ediyor olabileceği iddia edilmektedir. Bizim olgularımızda böyle bir birliktelik saptanmadı.

Belli bir antijen sıklığından ziyade özellikle PTSA' u olan ve büyük çoğunluğu akraba olan eşlerde, HLA-A, HLA-DR, loküslerinde 1 ve 2 antijen uygunluğunun, total olarakta 2 ve daha fazla antijen uygunluğunun istatistiki olarak anlamlı olacak şekilde fazla olduğu görüldü.

S O N U Ç

Tekrarlayan spontan abortuslarda (TSA) etyolojide rol oynayan genetik, anatomik, endokrinolojik ve enfeksiyöz nedenler ancak %50-60 olguda saptanabilmektedir. Önceki yıllarda etyolojisi açıklanamamış abortuslar "İdyopatik tekrarlayan abortus"lar olarak isimlendirilmekteydi. Transplantasyon immünolojisindeki gelişmeler bu gruptaki abortusların çok büyük bir kısmında immünolojik faktörlerin rol oynadığını ortaya koymuş teşhis ve tedavi konusunda çok büyük yenilikler getirmiştir.

Abortus nedeni olabilen immünolojik faktörler arasında HLA (Human Leucocyte Antigen) doku grupları önemli bir yer tutmaktadır. Yapılan çok sayıda çalışmada abortusu olan eşler arasında HLA antijenleri uygunluğunun fazla olduğu saptanmış, bunun gebeliğin sürmesi için olumsuz bir faktör olduğu ve abortusa yol açtığı belirlenmiştir.

Bu çalışmada diğer etyolojik faktörler ekarte edildikten sonra abortuslu eşlerden oluşan çalışma grubunda ve kontrol grubunda eşlerin HLA doku grubu antijenleri tayin edildi.

Primer tekrarlayan spontan abortuslu (PTSA) eşlerde HLA-A, DR, DQ loküslerinde 1,2 antijen uygunluğu ve bütün HLA loküslerindeki toplam 1, 2, 3, 4, 5 antijen uygunlukları kontrol grubuna göre anlamlı şekilde fazla bulundu.

Sekonder tekrarlayan spontan abortuslu (STSA) eşlerde HLA-A, HLA-DR loküslerinde 1 antijen uygunluğu ve bütün HLA loküslerindeki toplam 1-2 antijen uygunlukları kontrol grubuna göre anlamlı şekilde fazla idi. STSA'lu gruptaki eşler arasında HLA antijenleri uygunluğu PTSA'lu gruba göre daha az idi.

PTSA ve STSA grubunun toplamından oluşan TSA (Tekrarlayan Spontan abortus grubunda) HLA-B loküsü hariç tek tek bütün HLA loküslerinde 1-2 antijen uygunluğu ve bütün HLA loküslerindeki toplam 1,2,3,4 antijen uygunluğu kontrol grubuna göre anlamlı şekilde fazla bulundu.

Abortuslu eşler arasında özellikle hangi HLA antijenleri arasında uygunluğun fazla olduğu değerlendirildiğinde PTSA'lu grupta HLA-A2, DQ1, DR5 antijenleri açısından uygunluk fazla bulundu.

Çalışma ve kontrol gruplarındaki eşler arasında akrabalık olup olmamasına göre HLA loküslerindeki antijen uygunlukları değerlendirildiğinde; PTSA'lu grupta tek tek HLA loküslerindeki ve toplam bütün HLA loküslerindeki antijen uygunlukları akraba olan eşlerde daha fazla idi.

TSA'lu gruptaki akraba olan eşlerde HLA-DR loküsü antijenleri uygunluğu fazla bulundu. Bu bulgular akrabalık-HLA-abortus arasındaki ilişkiyi vurgulayan literatür bilgileri ile paralel idi. Abortuslarda hangi HLA antijenlerinin daha sık görüldüğü değerlendirildiğinde PTSA grubunda HLA-A2, DR5, DQ1 sıklığı fazla bulundu.

Sonuç olarak, belli bir HLA doku grubu antijeni sıklığından çok TSA'lu (özellikle PTSA grubundaki eşlerde) ve büyük çoğunluğu akraba olan eşlerde HLA-A, DR, DQ loküslerinde 1-2 antijen uygunluğunun ve bütün HLA loküslerindeki 2 ve daha fazla antijen uygunluğunun kontrol grubuna göre anlamlı olacak şekilde fazla olduğu görüldü.

Eşler arasındaki HLA uygunluğunun 1.trimestr tekrarlayan spontan abortuslar (özellikle PTSA) için etyolojik bir faktör olduğu sonucu çıkarıldı.

Ö Z E T

Bu çalışmada; tekrarlayan spontan abortus (TSA) nedeniyle İç Hastalıkları Anabilim Dalı Tıbbi Genetik Bilim Dalı'na başvuran çiftlerde ve kontrol grubu olarak oluşturulan abortusu olmayan, sağlıklı çocuk sahibi çiftlerde abortusa neden olan immunolojik faktörler içinde önemli yeri olduğu kabul edilen HLA (Human Leucocyt Antigen) doku grubu antijenlerinin eşler arasındaki uygunluğunun ve belirli HLA antijenlerinin sıklığının abortus oluşumundaki etkinliği diğer etyolojik faktörler ekarte edildikten sonra irdelenmiştir.

Özellikle PTSA (Primer Tekrarlayan Spontan Abortus)'lu ve büyük çoğunluğu akraba olan eşlerde tek tek HLA loküslerindeki 1 ve 2 antijen uygunluğunun ve bütün HLA loküslerindeki toplam 2 ve daha fazla antijen uygunluğunun kontrol grubuna göre anlamlı olacak şekilde fazla olduğu görülmüştür. PTSA grubu eşlerde HLA-A2, DR5, DQ1 antijenleri sıklığı fazla bulunmuştur.

Eşler arasındaki HLA doku grubu antijenleri uygunluğunun fazla olmasının 1. trimester primer tekrarlayan spontan abortusları için bir risk faktörü olduğu sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- 1- Ablin R.J., Gulam C.B. Treatment of reccurent spontaneous abortion: İmmunization with seminal plasma trophoblast - Lymphocyte crossre-active antigen. A.M.J. Reprod. İmmunol 19:73; 1989.
- 2- Adinolfi M. The maternal-fetal interaction: Some controversies and solutions Exp. Clin. Immunogenet. 10:2; 103 - 117, 1993.
- 3- Astolfi P., Martinetti M., Gigli B., Cuccia M. The Effect of Parenteral and Maternal-fetal histocompatibility at MHC on Sex ratio in offspring. Tissue Antigens. Apr. 35:4; 172 - 177, 1990.
- 4- Athanassakis V., Galanoplus V., Grigoriu M. Induction of Class II MHC antigen expression on the murine placenta by 5 azacytidine correlates with fetal abortion. Cell-Immunol. Jul: 128:2; 438 - 449, 1990.
- 5- Badur S. Toksoplazmozun Serolojik Tanısı. Klimik Dergisi. 3:1-3, 1990.
- 6- Balasch J., Coll,O., Martorell J., Jove L., Gaya A.: Further data against HLA Sharing in couples with reccurent spontaneous abortion. Gynecol. Endocrinol 3:1:63 - 9, 1989.

- 7- Barbui T., Cortelezzo S., Galli S., Parazzini F., Radici E., Rossi E., Finazzi G. Antiphospholipid antibodies in early repeated abortions: a case - controlled study. *Fertil. Steril.* 50:4:589, 1988.
- 8- Başaran N. Doku Aktarım Genetiği. *Tıbbi Genetik. Bilim Teknik Yayınları Beşinci Baskı.* Sayfa 179 - 184, 1994.
- 9- Beck A., Klein M. Differential diagnostic considerations in the assessment of habitual abortion. *Wien Med. Wochenschr.* 140:22:535 - 41, 1990.
- 10- Behar E., Carp H., Livneh H., Gazit E. Anti-idiotypic IgM antibodies to anti-HLA Class I antibodies in habitual abortion. *Am. J. Reprod Immunol Dec:* 26:4:143 - 146, 1991.
- 11- Bein G., Glaser R., Krichner H. Rapid HLA-DR1 genotyping by nested PCR amplification *Tissue Antigens* 39:68 - 73, 1992.
- 12- Benjamin D., Schwartz M. The Human Major Histocompatibility Human Leucocyte Antigen (HLA) Complex. *Basic and Clinical Immunology*, Editor: Daniel P., Stites B., Abba I:320 - 346, 1991.
- 13- Bernstein I.L., Balakrishnan K., Karbee L. Infertility treated with donor specific Lymphocytes in recurrent idiopathic spontaneous abortion. *Transplant. Proc.* 21:1:565, 1989.
- 14- Biddle P.K., Friedman C.J., Johnson P.M. Lymphocyte - reactive antibodies and recurrent early pregnancy failure. *Am. J. Obstet Gynecol* 157:3:785, 1987.
- 15- Billington W.D., *Maternal Immune Response to Pregnancy.* *Reprod. Fertil Dev.* 1:3, 183 - 190, 1989.

- 16- Bjercke S., Recurrent abortions and Lymphocyte transfusions. Acta. Obstet. Gynecol. Scand. May 73:5:373-376, 1994.
- 17- Boyar F.Z. Akriba olan ve olmayan çiftlerde gebelik kayıpları ve konjenital malformasyonlarda infeksiyon hastalıklarının yeri. Uzmanlık Tezi. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı 1993.
- 18- Branch W.D., Scott J.R., Kochenour N.K., Hershold E. Obstetric Complications associated with the Lupus anticoagulant N.Engl. J. Med. 313:1322, 1985.
- 19- Brdmann R. Aspects of evolution, significance and evolution of Human C Band Heteromorphism. Human Genetics. 61:281-284, 1982.
- 20- Butler M.G., Dev V.G., Phillis J.A. Genetics and Cytogenetics. In Jones H.W., Wentz AC. eds Novak's Textbook of Gynecology. 11 th., Ed, Williams and Wilkins. Philadelphia: W.B. Saunder, 5:123, 1988.
- 21- Byrn W.F., Gibson M. Infectious causes of recurrent pregnancy loss. Clin. Obstet. Gynecol. 29:4:925, 1986.
- 22- Carp H.J.A., Toder V., Gazit E., Orgad S., Mashiachs S., Nebel L., Serr.D.M. Recurrent miscarriage: a review of current concepts, Immune mechanisms and results of treatment. Obstet. Gynecol. 45:10:657, 1990.
- 23- Carp H.J.A., Toder V., Gazit E., Orgad S., Mashiach S., Nebel L., Serr D.M. Selection of Patients With habitual abortion for paternal leucocyte immunization. Arch. Gynecol. Obstet. 248:2:93-101, 1990.

- 24- Carp H.J., Toder V., Gazit E., Orgad S., Mashiach S., Nebel L., Serr D.M. Immunization by Paternal Leucocytes for prevention of primary habitual abortion; Results of matched controlled trial. *Gynecol Obstet. Invest* 29:16, 1990.
- 25- Cauchi M.V., Tait B., Willshire M.I., Koh S.H., Mraz G., Kloss, Repperell. R. Histocompatibility antigens and habituel abortion. *Am. J. Reprod. Immunol. Microbiol* 18:28:589, 1988.
- 26- Cenani A. Normal Yenidoğan Plasentası ve Spontan düşüklerin Fibroblast kültürlerinde sitogenetik araştırmalar. İst. Üni. Cerr.Tıp Fak. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kürsüsü 1970.
- 27- Christiansen O.B., Mathiesen O., Riisom K., Lauritsen J.G., Grunnet N., Jersild C. HLA or HLA-linked genes reduce birth weight in families affected by idiopathic recurrent abortion. *Tissue Antigens Oct* 36:4 156-163, 1990.
- 28- Christiansen O.B., Riisom K., Lauritsen J.G., Grunnet N. No increased histocompatibility antigen-Sharing in couples with idiopathic habitual abortions. *Hum. Reprod. Feb* 4:2 160-162, 1989.
- 29- Christiansen O.B., Riisom K., Lauritsen J.G., Grunnet N., Jersild C. Associations of maternal HLA haplotypes with recurrent spontaneous abortions. *Tissue-Antigens. Sep* 34:3 190-199, 1989.
- 30- Clark D.A., Croy B.A., Wegmann T.G., Chauat G. Immunological and paraimmunological mechanisms in spontaneous abortion. *Recent insights and future directions. J. Reprod. Immunol* 12:1, 1987.
- 31- Clark D.A., Banwatt D., Chauat G. Stress-triggerred abortion in mice prevented by alloimmunization. *Am. J. Reprod. Immunol apr.* 29:3:141-147, 1993.

- 32- Colombe B.W. Histocompatibility Testing In. Stites D.P., Terr A.L. ed, Basic and Clinical Immunology. ed 7. USA, Lange, 1991.
- 33- Confino E., Gleicher N. Pregnancy wastage with abnormal autoimmunity Immunol. Aller. Clin. North. Am. 10:103, 1990.
- 34- Connor J.M., Ferguson - Smith MA. Essential Medical Genetics. Fourth Edition. Black well Scientific Publications 167-171, 1993.
- 35- Cowchock S.F., Smith J.B., David S., Scherj., Batzer F., Carson S. Paternal mononuclear cell immunization therapy for repeated miscarriage; Predictive variables for pregnancy succes. Am. J. Reprod. Immunol. 22:12, 1990.
- 36- Çarin M. Transplantasyon Antijenleri HLA Sistemi Biyoloji Ders Notları Kitabı. 501-510, 1990.
- 37- Dudley D.J., Branch W.D. New approaches to reccurent pregnancy loss. Clin. Obstet. Gynecol. 32:3 50, 1989.
- 38- Erdoğan G., Üstek D., Uçur A., Palanduz Ş. Variation of C-Bands of Chromosome number one in a couple with reccurent early abortions. European Society of Human Genetics 24th Annual meeting kongre kitabı, sayfa 68.
- 39- Ergüven S., Aşar G., Gülmezoğlu A.M., Yergök Y.Z. Tekrarlayan abortuslarda antisperm ve antikardiolipin antikorları. Mikrobiyoloji Bülteni 24:1, 1990.
- 40- Ford J.H., Callen D.F., Cynthia G.R., Jalinke A.B. Interactions Between C. Bands of chromosomes 1 and 9 in Reccurent Abortions. Human Genet. 63:1:58-62, 1989.

- 41 – Giacomucci E., Bulletti C., Polli V., Prefetto R., Flamigni C. Immunologically mediated abortion (IMA) *J. Steroid-Biochem Mol. Biol.* Jun 49:2-3:107-121, 1994.
- 42 – Gill T.J., Genetic Factors in Fetal Loss. *Am. J. reprod. Immunol Microbiol.* 15:133, 1987.
- 43 – Gustincich S. Manfiolett, Del Sal G. A fast method for high quality genomic DNA extracting from whole blood. *Bio Techniques.* 11:298-302, 1991.
- 44 – Hajek Rosenmayr A. The HLA system and habitual abortion. *Wien. Med. Wochenschr.* 140:22:542-544, 1990.
- 45 – Hardy D.A., Bell J.I., Long E.O., Lindsten, T., Mc Devitt H.O. Mapping of the Class II region of the major histocompatibility complex by pulsed-field gel electrophoresis. *Nature*, 323: 453-455, 1986.
- 46 – Hasegawa I., Tani H., Takakuwa K., Goto S., Yamada K., Kanazawa K. A new lymphocyte serotyping using cytotoxic antibodies from secondary recurrent aborters and its application in cases of recurrent abortion and infertility *Fertil-Steril* May 55:5 906-910, 1991.
- 47 – Heming L., Burns C. Heterochromatic Polymorphism in spontaneous abortions. *Journal of medical Genetics.* 16:358-362, 1979.
- 48 – Hill J.A. Immunological Mechanisms of Pregnancy Maintenance and Failure: A critique of theories and therapy. *Am. J. Reprod Immunol.* 22:33, 1990.
- 49 – Hinney B., Neumeyer H. Immunotherapy for the prevention of abortion. *Geburtshilfe. Frauenheilkd* Jan 51:1:15-22, 1991.

- 50- Ho-HN., Yang Y.S., Hsieh R., Lin H., Chen HF., Huang S.C. Sharing of human leucocyte antigens in couples with unexplained infertility affects the succes of in vitro fertilization and tubal embryo transfer. *Am. J. Obstet. Gynecol.* Jan 170:1 63-71, 1994.
- 51- Ho-H.N., Gill T.J., Hsieh C., Yang Y., Lee T.Y. The prevalance of recurrent spontaneous abortions cancer and congenital anomalies in the families of couples with recurrent spontaneous abortions or gestational trophoblastic tumors. *Am. J. Obstet. Gynecol* Aug 165:2:461-466, 1991.
- 52- Ho-HN, Gill T.J., Nsien R.P., Hsieh H., Lee T. Sharing of human Leucocyte antigens in primary and secondary recurrent spontaneous abortions. *Am. J. Obstet. Gynecol.* Jul 163:1 178-188, 1990.
- 53- Holzberger S., Seidl S., Kuhl P. Immune hemotologic diagnosis in women with habitual abortion. *Beitr. Infusionther* 26:295-297, 1990.
- 54- Hoshiai H., Ishikawa M., Noda KN., Takahoma K., Fukaya T., Yajima A. Influence of HLA antigens on reproduction among Japanese population: Study of haplotypes in 247 families. *Tohoku J. Exp. M. Feb.* 172:2, 139-46, 1994.
- 55- Innes A., Cunningham C., Power D.A., Catto GrD. Fetus as an allograft: noncytotoxic maternal antibodies to HLA linked paternal antigens. *Am.J. Reprod Immunol* 19:146, 1989.
- 56- Johnson P.M., Chia KV., Hart C.A., Griffith H.B., Francis W.J.A. Trophoblast membrane infusion for unexplained recurrent miscarriage. *B.J.Obstet Gynecol* 95:342, 1988.
- 57- Johnson P.M. Immunobiology of the human placental trophoblast. *Exp. Clin. Immunogenet.* 10:2:118-122, 1993.

- 58 – Kajino T., Faulk W.P., Mc Intyre J.A. Antigenes of human trophoblast: Trophoblast – Lymphocyte Cross-reactive antigens on Platelets. *Am.J.Reprod Immunol. Microbiol*, 14:70, 1987.
- 59 – Karl A., Metzner G., Seewald H., Karl M., Born U., Tilch G. HLA compatibility and susceptibility to habitual abortion. Results of histocompatibility testing of couples with frequent miscarriages *Allerg. Immunol. Leipz.* 35:2, 133 – 140, 1989.
- 60 – Kilpatrick D.C., Liston W.A., Neill G., Maxwell C. Immune profile of women experiencing recurrent spontaneous abortion of unknown etiology. *Dis Markers. Apr. Jun* 7:2:87 – 94, 1989.
- 61 – Kilpatrick D.C., Liston W.A. Influence of histocompatibility antigens in recurrent spontaneous abortion and its relevance to leucocyte immunotherapy. *Hum. Reprod. Oct* 8:10:1645 – 1649, 1993.
- 62 – Koyama M., Saji F., Takahashi S., Takemura M., Samemija Y., Kameda T., Kimura T., Tanizawa D. Probabilistic assesment of the HLA Sharing of recurrent spontaneous abortion couples in the Japanese Population. *Tissue – Antigens May* 37:5:211 – 217, 1991.
- 63 – Kökçü A., Ökten G. Tekrarlayan spontan düşükleri olan çiftlerde sitogenetik araştırma. *Jinekoloji ve Obstetrik Dergisi.* 3:32 – 37, 1989.
- 64 – Laitinen T. A set of MHC haplotypes found among finnish couples suffering from reccurent spontaneous abortions. *Am. J. Reprod. Immunol Apr* 29:3 148 – 54, 1993.
- 65 – Latinne D., Carly D., De Bruyere M., Van Lierde M., Sokal G., Thomas K. Leucocyte immunization and early spontaneous abortions. *J. Gynecol Obstet. Biol. Reprod. Paris* 18:1:113 – 116, 1989.

- 66- Mandell G.L., *Infectious Disease*, ed 3. New York, Churchill Livingstone Inc., 1990.
- 67- Maxson W.S. Hormonal Causes of recurrent abortion. *Clin Obstet. Gynecol* 29:4-941, 1986.
- 68- Mc Intyre J.A., Mc Connachie P.R., Taylor C.G., Faulk P.W. Clinical, Immunologic and genetic definitions of primary and secondary recurrent spontaneous abortions. *Fertil. Steril* 42:849, 1984.
- 69- Mc Intyre J.A., Faulk P.W., Nichols Johnson V.R., Taylor C.G. Immunologic testing and immunotherapy in recurrent Spontaneous abortion. *Obstet.Gynecol.* 67: 169, 1986.
- 70- Mc Intyre J.A., Faulk P. Human Lymphocyte cross reactive (TLX) antigens define a new alloantigen systems. *Science* 222:1135, 1983.
- 71- Mc Intyre J.A. In search of Trophoblast-Lymphocyte cross-reactive (TLX) antigens. *Am. J. Reprod Immunol Microbiol* 17:100, 1988.
- 72- Moloney M.D., Bulmer J.N., Scott J.S., Need J.A., Pattison U.S. Maternal immune responses and recurrent miscarriage *Lancet* ii:45, 1989.
- 73- Mowbray J.F., Underwood J., Gill T.J. Familial Recurrent Spontaneous abortions. *Am.J. Reprod. Immunol.* Aug 26:1:17-8, 1991.
- 74- Nielsen J. Large Y. Chromosome (Yq+) and increased risk of abortion. *Clinical Genetics*: 13:415-416, 1978.
- 75- Ober C. The Maternal - Fetal Relationship in Human Pregnancy: An Immunogenetic Perspective, Invited Review. *Exp. Clin Immunogenetic*:9:1-14, 1992.

- 76 - Olerup O, Aldener A, Fogdell A. HLA-DQB1 and DQA1 typing by PCR amplification with Sequence specific primers (PCR-SSP) in 2 hours *Tissue antigens*:41:115-134, 1993.
- 77 - Olerup O, Zetterquist H. HLA-DR typing by PCR amplification with sequence - specific primers (PCR-SPP) in 2 hours: An alternative to serological DR typing in clinical practice including donor recipient matching in cadaveric transplantation. *Tissue Antigens*: 39:225-235, 1992.
- 78 - Patil R.S., Lubs H.A. A possible association of Long Y Chromosomes and Fetal Loss. *Human Genet.* 35:232:35, 1977.
- 79 - Purandare A.S., Smith S., Wilson P.J. HLA Frequency, HLA Sharing and Immunotherapy in the management of recurrent miscarriage *Int. j. Fertil. Menopausal. Stud.* Jul. Aug:38:4:219-224, 1993.
- 80 - Reznikoff-Etievant M.F., Bonneau J.C., Alcalay D., Cavelier B., Toure C., Lobet R., Netter A. HLA antigen-sharing in couples with repeated spontaneous abortions and the birthweight of babies in successful pregnancies. *Am. J. Reprod. Immunol* Jan 25:1:25-27, 1991.
- 81 - Sagot P., Bignon J.D., Cesbran A., Laurent FX., Adjou C., Muller J.Y. Immunological treatment of spontaneous repeated abortions. The Value of transfusing the partner's Leucocytes in the third week of gestation. *J. Gynecol. Obstet - Biol. Reprod-Paris* 22:5:471-475, 1993.
- 82 - Salazar M., Yunis J.J., Delgado M.B. HLA-DQB1 allele typing by a new PCR-RFLP method. Correlation with a PCR-SSO method. *Tissue Antigens*: 40:116-123, 1992.
- 83 - Santamaria P., Boyce-Jacino M.T., Lindstrom A.L. HLA Class II "typing": Direct Sequencing of DRB, DQB and DQA genes. *Human Immunol*: 33:65-81, 1992.

- 84 – Serakıncı N. Tekrarlayan düşüklerde kromozom heteromorfizmi ve özellikle Y-heteromorfizminin anlamlılığı. Yüksek Lisans Tezi. İ.Ü.-Sağlık Bilimleri Enstitüsü. İç Hast. A.B.D. Tıbbi Genetik Bilim Dalı, 1993.
- 85 – Schwartz D., Jungi E., Neumeister A., Immunologic diagnosis and therapy in habitual abortion. Wien. Med. Wochenschr. 140:22:547 – 550, 1990.
- 86 – Shaffer W. Role of uterine adhesions in the cause of multiple Pregnancy losses. Clin. Obstet. Gynecol 29:1 – 912, 1986.
- 87 – Simpson J.L., Golbus M.S. Genetics in Obstetrics; Gynecology Second Edition. W.B. Saunders Company p:181 – 201, 1992.
- 88 – Smith J.B., Cowchock F.S. Immunological studies in recurrent spontaneous abortion: effects of immunization of women with paternal mononuclear cells on lymphocytotoxic and mixed lymphocyte reaction blocking antibodies and correlation with sharing of HLA and pregnancy outcome. J. Reprod. Immunol. 14:99, 1988.
- 89 – Smith J.B., Cowchock F.S., Hankinson B., Iftekhar A. Association of HLA – DR5 with recurrent spontaneous abortion in women treated with paternal leucocytes.
- 90 – Sönmez G.S. Son dönem kronik böbrek yetmezliği hastalarının transplantasyon öncesi pozitif crossmatch'lerinin tanımı: A – otoantikörlerin (IgM), B – Tarama ile Anti – HLA'ların etkilerinin gösterilmesi. Doktora Tezi. İ.Ü.Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, 1989.

- 91 – Sönmez G.S. Böbrek Hastalarında Dializ ve Transplantasyon Öncesi Kan Grupları ve HLA – Doku tipi Antijenlerinin Değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi. İ.Ü.Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı. 1986.
- 92 – Strachan T., Harris R. The HLA System: Principles and Practice of medical genetics. Edited by. Emery H., Alan E, Riman D.L. Volume 2. Churchill Livingstone p:1453 – 1460, 1990.
- 93 – Stern J.J., Coulam C.B. Current status of immunologic recurrent pregnancy loss. Curr. Opin. Obstet. Gynecol. Apr 5:2:252 – 259, 1993.
- 94 – Stirrat G.M. Recurrent miscarriage. Clinical associations. Causes and management. Lancet sep 22:336(8717):728 – 733, 1990.
- 95 – Sugi T., Makino T., Maruyama T., Kim W.K., Lizuka R. A possible mechanism of immunotherapy for patients with recurrent spontaneous abortions. Am J. Reprod. Immunol May 25:4:185 – 189, 1991.
- 96 – Şaylı B.S. HLA Sistemi – MHC loküsü – Transplantasyon Antijenleri. Medikal Genetik İlkeler. Türkiye Klinikleri Yayınevi Sayfa: 71 – 73, 1992.
- 97 – Takamizawa M., Juji T., Tsuneyoshi H., Nieda M., Fujii T., Kawana T., Mizuna M. Recurrent spontaneous abortion and human leucocyte antigen DRW5. Am. J. Obstet. Gynecol 157:2, 514, 1987.
- 98 – Tangri S., Wegmann T.G., Lin H., Raghupathy R. Maternal anti – placental reactivity in natural, Immunologically – Mediated Fetal resorptions. J. Immunol. May 15. 152:10 4903 – 4911, 1994.
- 99 – Thompson M.W. Mc Innes R.R., Willard H.F.: Genetics in medicine. Fifth Edition. Philadelphia. WB Saunders Company p.337 – 349, 1991.

- 100 - Tiwari J.L., Terasaki P.I.: HLA and Disease Associations. Springer-Verlag New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo 1985.
- 101 - Trabace S., Nicotra M., Cappellaci S., Morellini M., Muttinelli C., Sbracia M. HLA-DR and DQ antigens and anticardiolipin antibodies in women with recurrent spontaneous abortions. Am. J. Reprod. Immunol Dec. 26:4:147-149, 1991.
- 102 - Verrell P.A., McCabe N.R., Major histocompatibility antigens and spontaneous abortion: an evolutionary perspective Med. Hypotheses. Jul. 32:3:235-238, 1990.
- 103 - Verp M.S., Sibul M., Billstrand C., Bellen G., Hsu M., Ober C. Maternal-fetal histocompatibility in intrauterine growth retarded and normal weight babies. Am. J. Reprod. Immunol. May 29:4:195-198, 1993.
- 104 - Yılmaz Ş. Tekrarlayan Düşükleri Olan Çiftlerde Sitogenetik İncelemeler. Yüksek Lisans Tezi. İ.Ü.Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1993.
- 105 - Habituel abortusta enfeksiyöz sebeplerin rolü. Jinekoloji ve Obstetrik Dergisi, 3:240, 1989.