

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

**İDİOPATİK TEKRARLAYAN GEBELİK KAYBI OLAN
HASTALARDA ETYOLOJİYE YÖNELİK ENDOMETRİYAL
RESEPTİVİTENİN KLİNİK, İMMUNOHİSTOKİMYASAL VE
ELEKTRON MİKROSKOBİK YÖNTEMLERLE
KARŞILAŞTIRMALI DEĞERLENDİRMESİ**

UZMANLIK TEZİ
DR. BANUHAN ŞAHİN

DANIŞMAN
PROF.DR. S. ERKAN ALATAŞ

DENİZLİ -2014

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

**İDİOPATİK TEKRARLAYAN GEBELİK KAYBI OLAN
HASTALARDA ETYOLOJİYE YÖNELİK ENDOMETRİYAL
RESEPTİVİTENİN KLİNİK, İMMUNOHİSTOKİMYASAL VE
ELEKTRON MİKROSKOBİK YÖNTEMLERLE
KARŞILAŞTIRMALI DEĞERLENDİRMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. BANUHAN ŞAHİN

DANIŞMAN

PROF.DR. S. ERKAN ALATAŞ

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 11.04.2014 tarih ve 2014TPF012 nolu kararı ile desteklenmiştir.

DENİZLİ -2014

Prof. Dr. S. Erkan Alataş danışmanlığında Dr. Banuhan Şahin tarafından yapılan “İdiopatik Tekrarlayan Gebelik Kaybı Olan Hastalarda Etyolojiye Yönelik Endometriyal Reseptivitenin Klinik, İmmunohistokimyasal Ve Elektron Mikroskopik Yöntemlerle Karşılaştırmalı Değerlendirmesi ” başlıklı tez çalışması gün²⁴12/2014 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim/Bilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

Prof. Dr. Erkan ALATAŞ
Kadın Hst. Doğum A.D.
Dip. Tes. No: 36292

ÜYE

PAÜ Eğt. Uyg. ve Ars. Hast.
Prof. Dr. İ. Vezir FENKÇİ
Kadın Hast. ve Doğum A.D.
Diploma No: 93011077
Tescil No: 88951

ÜYE

Prof. Dr. Mehmet YILMAZ
AKÜ Tıp Fak. Kadın Hast. ve Doğum ABD.
Diploma No: 9411126

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım. /12/2014

Prof. Dr. *Hasan Horkan*

Pamukkale Üniversitesi

Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmam ve asistanlık eğitimim süresince sahip olduğu bilgi birikimi ve görüşleriyle beni yönlendiren, her zaman desteğini hissettiğim değerli hocam Sayın Prof. Dr. Erkan Alataş'a;

Asistanlık eğitimim boyunca gösterdikleri ilgi ve yardımlarından dolayı başta Anabilimdalı başkanımız olan Sayın Prof. Dr. İ. Veysel Fenkçi'ye, Sayın Prof. Dr. Babür Kaleli'ye, Sayın Prof. Dr. Başak Yıldırım'a, Sayın Doç. Dr. Aysun Karabulut'a, Sayın Doç. Dr. Tolga Güler'e, Sayın Yard. Doç. Dr. Özer Öztekin'e, Sayın Yard. Doç. Dr. Ömer Demirtaş'a, Sayın Yard. Doç. Dr. Serap Simavlı'ya;

Tez çalışmamda emeği geçen başta Doç. Dr. Sevgi Özkan'a, Prof. Dr. Metin Akbulut'a, Doç. Dr. Nazan Keskin'e;

Dört yıl boyunca aynı çalışma ortamını paylaştığım, ilgi ve dostluklarını her zaman hissettiğim asistan arkadaşlarıma, hemşire ve personelimize;

Hayatım boyunca hiçbir maddi ve manevi fedakarlıktan kaçınmayan anneme ve babama; her türlü zorlukta yanımda olduğunu hissettiren kadın doğum uzman adayı kardeşim Buğra'ya

Teşekkürü bir borç bilirim...

Dr. Banuhan Şahin

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ONAY SAYFASI	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
SİMGELER VE KISALTMALAR	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
TABLolar DİZİNİ	IX
ÖZET	XI
İNGİLİZCE ÖZET	XIII
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	4
Tekrarlayan gebelik kayıpları	4
Endometriyal reseptivite	12
Histeroskopi	17
MATERYAL METOD	22
BULGULAR	33
TARTIŞMA	49
SONUÇLAR	64
KAYNAKLAR	65
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

aCL: Antikardiolipin antikor

ANXA: Annexin

APA: Antifosfolipid antikor

aPCR: Aktive protein C rezistansı

APS: Antifosfolipid sendrom

E₂: Östrojen

FSH: Folikül stimüle edici hormon

H/S: Histeroskopi

İL: İnterlökin

İTGK: İdiopatik tekraryan gebelik kaybı

İVF: İn vitro fertilizasyon

İVİG: İntravenöz immunglobulin

LA: Lupus antikoagulant

LİF: Lösemi inhibitör faktör

MUC: Musinler

PG: Prostaglandin

LFY: Luteal faz yetmezliği

LH: Luteinize edici hormon

NP: Nöronal pentraksin

OPN: Osteopontin

PGT: Preimplantasyon Genetik Tanı

PRL: Prolaktin

SEM: Scanning elektron mikroskop

TEM: Transmision elektron mikroskop

TGK: Tekrarlayan gebelik kaybı

TSH: Tiroid stimüle edici hormon

USG: Ultrason

VKİ: Vücut kitle indeksi

25-OH-Vitamin D: 25-hidroksi-Vitamin D

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 1: Endometriyumun ultrasonografik değerlendirmesi.....	23-24
Şekil 2: ANXA-1 ile boyanmış patoloji spesmenleri.....	27
Şekil 3: NP-1 ile boyanmış patoloji spesmenleri.....	28
Şekil 4: OPN ile boyanmış patoloji spesmenleri.....	29
Şekil 5: Scanning elektron mikrografları.....	30-31
Şekil 6: Histeroskopi görüntüleri.....	31

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 1: Hasta ve kontrol gruplarının periovulatar dönem endometriyal kalınlıklarının dağılımları.....	33
Tablo 2: Hasta ve kontrol gruplarının periovulatar dönem endometriyal kalınlık skor dağılımları.....	33-34
Tablo 3: Hasta ve kontrol gruplarının midluteal dönem endometriyal kalınlıklarının dağılımları.....	34
Tablo 4: Hasta ve kontrol gruplarının midluteal dönem endometriyal kalınlık skor dağılımları.....	34-35
Tablo 5: Hasta ve kontrol grupların periovulatar ve midluteal dönemdeki endometriyal kalınlıklarının (mm) ortalama değerleri, standart sapmaları ve P değerleri.....	35
Tablo 6: Periovulatar ve midluteal dönemde endometriyum tiplerinin hasta ve kontrol gruplarına dağılımları.....	35-36
Tablo 7: Hastaların abortus sayılarına göre yaşlarının, VKİ (kg/m ²) değerlerinin, periovulatar ve midluteal dönemdeki endometriyal kalınlıklarının (mm) ortalama değerleri, standart sapmaları ve P değerleri.....	36
Tablo 8: Hastaların periovulatar ve midluteal dönemde endometriyum tiplerinin abortus sayılarına göre dağılımı.....	37
Tablo 9: Hasta ve kontrol gruplarının ortalama değerleri, standart sapmaları ve P değerleri.....	38
Tablo 10: ANXA-1 ile boyanan vakaların ayrıntılı skorlanma dağılımları.....	38-39
Tablo 11: Hasta ve kontrol gruplarının ortalama değerleri, standart sapmaları ve P değerleri.....	39
Tablo 12: NP-1 ile boyanan vakaların ayrıntılı skorlanma dağılımları.....	40

Tablo 13: Hasta ve kontrol gruplarının ortalama değerleri, standart sapmaları ve P değerleri.....	41-42
Tablo 14: Progesteron değerlerine göre hasta ve kontrol gruplarının sayı ve yüzdelik dağılımları.....	42
Tablo 15: Hasta grubunun progesteron değerlerine göre karşılaştırılması.....	42
Tablo 16: OPN ile boyanan vakaların ayrıntılı skorlanma dağılımları.....	43-44
Tablo 17: Hasta ve kontrol gruplarının pinopod yoğunlukları.....	44
Tablo 18: Hasta ve kontrol gruplarının pinopod morfolojileri.....	45
Tablo 19: Hasta ve kontrol grubun 25-OH-Vitamin D değerleri.....	45-46
Tablo 20: Hasta grubundaki farkı seviyelerdeki 25-OH-Vitamin D gruplarında yaşı, VKİ, periovulatuvar dönem endometriyal kalınlık ve midsekretuar endometriyal kalınlık lmeleri.....	46
Tablo 21: Hasta ve kontrol gruplarının histeroskopi gözlemlerindeki endometriyal gland ve damar yapıları.....	47

ÖZET

İdiopatik tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda etyolojiye yönelik endometriyal reseptivitenin klinik, immunohistokimyasal ve elektron mikroskopik yöntemlerle karşılaştırmalı değerlendirmesi

Dr. Banuhan ŞAHİN

Tekrarlayan gebelik kaybı arka arkaya 2 veya daha fazla gebelik kaybı olarak tanımlanır. Tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan çiftlerin yarısında bir neden bulunmamaktadır. İdiyopatik olarak adlandırılan bu hastalarda implantasyon penceresinde endometrial reseptivite cevabının bozuk olduğu tahmin edilmektedir. Çalışmada amacımız idiyopatik tekrarlayan gebelik kayıpları olan hasta grubu ile doğurgan olduğu bilinen sağlıklı gönüllü grubunun endometriumlarının implantasyon penceresinde endometrial reseptivite açısından klinik, immuno-histokimyasal ve elektron mikroskopisi yöntemleri ile karşılaştırmalı değerlendirilip etyolojik faktörlerin saptanmasıdır.

İdiyopatik tekrarlayan gebelik kaybı ve sağlıklı gönüllü grubunda endometriyal reseptivite tayini için ovulasyon tespitinden altı gün sonra implantasyon penceresinde endometriyumun ultrasonografi ile kalınlık ölçümü, tiplendirmesi ve skorlanması değerlendirilmiş; alınan endometriyal biyopsi örneğinin immunohistokimyasal yöntemle annexin, pentraxin, osteopontin ile boyanması incelenmiş; alınan endometriyal biyopsi örneğinin scanning elektron mikroskopik yöntemle pinopod dağılımı ve morfolojisi tayin edilmiş; serum 25-OH-Vitamin D düzeyi ölçülmüş; histeroskopik gözlemlerle gland açılımları ve damar yapıları incelenmiştir.

Hasta ve kontrol grubun yaş ve VKİ ortalamaları benzer bulunmuştur. Yapılan istatistiksel yöntemlerle gruplar arasında ultrasonla ölçülen endometriyum kalınlığının, endometriyal biyopsi örneğinin immunohistokimyasal olarak pentraxinle boyanmasının, serum progesteron düzeyinin, scanning elektron mikroskop ile değerlendirilen pinopod yoğunluğunun ve morfolojisinin, histeroskopik gözlemlerle değerlendirilen endometriyal gland açılımlarının ve damar yapılarının, serum vitamin D düzeylerinin farklılık gösterdiği bulunmuştur.

İnfertilite, tekrarlayan implantasyon başarızlığı, tekrarlayan gebelik kaybında implantasyon penceresinde defektif endometriyumun varlığı yapılan çalışmalarla kanıtlanmış olsa da ideal belirteç konusunda spekülasyonlar vardır. Endometriyal kalınlık, pentraxinle boyanabilirlik, pinopod dağılımları ve morfolojisi, histeroskopik gözlem, serum vitamin D düzeyi idiopatik tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda endometriyal reseptivitenin tayininde kullanılabilir birer belirteç olabilirler.

Anahtar kelimeler: İdiopatik tekrarlayan gebelik kaybı, endometriyal reseptivite, pentraxin, pinopod, vitamin D

SUMMARY

Comperative assesment of etiologic factors on endometrial receptivity of idiopathic recurrent pregnancy loss groups by incorporating clinical, immunohistochemical and electron microscopy techniques

Recurrent pregnancy loss is defined as the loss of 2 or more pregnancies consecutively. Half of the couple has not a cause of recurrent pregnancy loss. It is estimated that endometrial receptivity reply is defective in these patients who are entitled as idiopathic. In this study our aim was to evaluate the implantation window of endometrium in comparison with clinical, immuno-histochemical and electron microscopy methods in terms of endometrial receptivity and to determine the etiologic factors in patients group with idiopathic recurrent pregnancy loss and healthy volunteers group with childbearing is known.

Endometrium was evaluated with ultrasound for measurement of the thickness, score and type; endometrial biopsy specimens were examined immuno-histochemical staining of annexin, pentraxin and osteopontin; endometrial biopsy specimens were determinated the pinopodes distribution and morphology with scanning electron microscopic method; serum 25-OH-vitamin D levels were measured; gland openings and vascular structures were investigated with hysteroscopic observations for evaluating endometrial receptivity in patients group with idiopathic recurrent pregnancy loss and healthy volunteers group, in implantation window, six days after detection of ovulation.

The mean age and BMI were similar in patients and control groups. It was found that ultrasound measurement of endometrial thickness, pentraxin staining of endometrial biopsy immunohistochemically, serum progesterone levels, evaluation of pinopodes density and morphology with scanning electron microscope, investigation of endometrial glands opening and vascular structures with hysteroscopic observation, serum vitamin D levels were different between the groups with statistical methods.

Although, defective endometrium in the window of implantation was proven by studies in infertility, recurrent implantation fail, recurrent pregnancy loss; there has been speculations about the existence of an ideal marker.

Endometrial thickness, staining with pentraxin, pinopodes distribution and morphology, hysteroscopic observation, serum vitamin D levels can be used as a marker for determination of endometrial receptivity in idiopathic recurrent pregnancy loss patients.

Key Words: Idiopathic recurrent pregnancy loss, endometrial receptivity, pentraxin, pinopode, vitamin D

GİRİŞ

Tekrarlayan gebelik kaybı veya "habituel abortus"; arka arkaya 2 veya daha fazla gebelik kaybı olarak tanımlanır. TKG'nınolası nedenleri; genetik bozukluklar, anatomik nedenler, endokrinolojik bozukluklar, enfeksiyöz hastalıklar, çevresel nedenler, immünolojik nedenler ve kalıtsal trombofililerdir. TKG olan çiftlerin %50'sinde bir neden bulunmamaktadır (1). İdiyopatik olarak adlandırılan bu hastalarda implantasyon penceresinde endometrial reseptivite cevabının bozuk olduğu tahmin edilmektedir. İmplantasyon penceresinde endometriumdan salgılanan çeşitli sitokinler, integrinler, prostoglandinler ile oluşan karmaşık bir diyalog sonucunda; embriyonun desiduaaya yapışması, bazal membrana doğru inmesi ve stromaya invaze olması gerekmektedir. Ancak bu haberleşmedeki bazı aksaklıklar veya farklılıklar nedeni ile gebelik kayıpları tekrarlı bir şekilde sonlanabilmektedir. İmplantasyon penceresindeki bu değişimleri belirlemek ve farklılıkları anlamaya yönelik çalışmalar günümüzün en popüler bilimsel araştırma alanlarından biridir.

Bu çalışmada amacımız İdiyopatik tekrarlayan gebelik kayıpları (İTGK) olan hasta grubu ile doğurgan olduğu bilinen sağlıklı gönüllü grubunun endometriumlarının implantasyon penceresinde endometrial reseptivite açısından klinik, immuno-histokimyasal ve elektron mikroskopisi yöntemleri ile karşılaştırmalı değerlendirilip etyolojik faktörlerin saptanmasıdır. Bu değerlendirme ile;

1. Preovulatar ve Mid-luteal fazda endometriyum kalınlığı ve tipinin sağlıklı doğurgan bireylerle İTGK hasta grubu arasında fark var mıdır? Gebelik kaybıyla ilişkisini öngörmeye rolü var mıdır?

Endometriyal reseptivitenin ultrason (USG) ile değerlendirilmesi daha çok infertilite etyolojisine yönelik yapılmış ve preovulatar dönemde endometriyumun üç çizgi şeklinde olması gebelik şansını artırdığı bulunmuştur (2). Biz de çalışmamızda USG ile bakılan hasta ve sağlıklı gönüllülerin endometriyumlarında morfolojik ve kalınlık olarak bir fark olabileceğini ve bu farkın İTGK ile ilişkili olabileceğini öngörmekteyiz.

2. Mid-luteal fazda endometrium yüzey epitel hücrelerinden salınan annexin, pentraxin, osteopontin gibi sitokinlerin endometriyal reseptiviteyi

değerlendirmede rolü var mıdır? Böylece implantasyon penceresinde ideal endometriyal reseptivite markerına ulaşmayı hedefliyoruz.

Geç proliferatif fazda reseptif endometriyumun gelişmesinde düzenleyici mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir. Erken orta luteal faza geçişte bazı gen ekspresyon değişiklikleri, moleküler fenotip farklılıkları, immunohistokimyasal değişiklikler homojen endometriyum oluşmasında rol oynamaktadır. Endometriyal gelişim seks steroidlerinin fazdan faza farklı etkilerine maruz kalmakla birlikte özellikle östrojen ve progesteronun bazı biyokimyasal faktörler üzerinde etkili olduğu ve endometriyal reseptivite ve gebelik şans oranlarını değiştirdiği bilinmektedir. Ancak orta luteal fazda endometriyum epitel hücrelerinden salgılanan genomik ve proteomik maddeler implantasyon penceresinde gerek embriyonun endometriyuma yapışmasını, gerek invazyonunu etkilemektedir (3). Annexin; diğer adı lipokortin, potent bir antikoagülan olan proteinin endotelde salınımı ile implantasyonun gerçekleşebildiği görülmüştür (4). İnflamatuar bir protein olan Pentraxin'in endometriyumdaki miktarının azalması ile apoptotik hücrelerin enkaz kaldırma görevine engel olarak implantasyon başarısızlığına yol açabileceği görülmüş (5). Osteopontin; östrojen bağımlı bir protein, embriyonun endometriyuma yapışmasında görevli bir sitokin olarak bulunmuştur (6). Bu bilgiler ışığında implantasyon penceresinde endometriyum epitel hücrelerinden salınan bu üç proteinin miktarının gruplarımız arasında farklılık içereceğini ve bu farklılığın İTGM ile ilişkili olabileceğini öngörmekteyiz.

3. Mid-luteal fazda elektron mikroskopi ile pinopod morfolojisinin değerlendirilmesi, hasta ve sağlıklı grubu arasında fark var mıdır?

Endometriyal yüzeyde pinopod oluşumunun embriyo implantasyonu ile korele olan morfolojik bir değişiklik olduğu düşünülmektedir (7). Buna bağlı olarak her iki gruptaki endometriyumlarda pinopod miktarı, dağılımı ve yüzey özellikleri arasında farklılık olacağını ve bu farklılığın İTGM ile ilişkili olabileceğini öngörmekteyiz.

4. İnfertilitede önemi olan D Vitaminin tekrarlayan gebelik kaybı ile ilişkisi var mıdır?

D Vitamini antioksidan bir madde olup fetomaternal etkileşimde immüno-regülasyonda rol oynadığı bilinmektedir (8). Bu amaçla iki gruptaki D

Vitamini konsantrasyonları karşılaştırılarak düşük D Vitamininin İTGM ile ilişkili olabileceğini öngörmekteyiz.

5. Histeroskopik gözlemede iki grup arasında farklılığın değerlendirilmesi.

Literatür taramasında bu konuda henüz bir çalışma yapılmamış olmakla birlikte histeroskopik gözlem kaydı yapılarak uterin kavitede var olan görünümün fotografik skalasına göre karşılaştırılmasının her iki grupta farklı olacağını ve bunun İTGM ile ilişkili olabileceğini öngörmekteyiz.

Tüm bu veriler ışığında ulaşmak istediğimiz hedef implantasyon penceresinde endometrial reseptivitenin klinik, immühistokimyasal ve elektron mikroskopi ile karşılıklı değerlendirilmesi ile nedeni açıklanmış gebelik kaybını öngörebilen güvenilir bir marker bulunabilir mi ve etyolojik sebebin ne olduğu sorusunu cevaplamaktır.

GENEL BİLGİLER

TEKRARLAYAN GEBELİK KAYIPLARI

Tekrarlayan gebelik kayıplarının (TGK) klasik tanımı yirminci gebelik haftasından önce arka arkaya gerçekleşen üç ve üzerinde spontan düşük olarak tarif edilmiştir. İnsidans açısından bakıldığında toplumda bir kez düşük yapma olasılığı %15-40, iki kez düşük gerçekleşmesi %2-5, üç kez ardarda düşük oluşma şansı ise %1'den azdır. Epidemiyolojik bulgulara göre yaşanmış bir düşük olayını takiben tekrar düşük olma olasılığı ailenin yaşayan bir çocuğu varsa %24, yoksa %46 civarındadır. Tekrar düşük riski, daha önce iki kez düşük yapanlarda %24, üç kez düşük yapanlarda ise %40 civarında bulunmuştur. Sosyal nedenlerle uygulanmış indüklenmiş abortusların bir sonraki gebelik prognozuna olumsuz etkisi bulunmadığı için bu tip düşükleri TGK tanımına dahil etmemek gerekmektedir. Epidemiyolojik bulgulara göre iki veya üç düşük sonrası beklenen gebelik prognozu benzer oranlardadır. Bu nedenle geçmişte TGK etiyojisine yönelik araştırmalar tanım gereği üç ardışık düşük sonrası önerilirken, son zamanlarda hastanın yaş ve isteğini göz önüne alarak iki düşük sonrası incelemeye başlamayı önerenler artmaktadır (9-11).

Tekrarlayan gebelik kayıplarının etiyojisi günümüzde yedi ana başlıkta incelenebilmektedir. Gebeliğin farklı dönemlerinde etki eden etiyojik faktörlerin farklı olması nedeniyle gebelik kayıplarının preembryonik, embryonik ve fetal dönem olarak ayrı ayrı sınıflanması ve çalışmaların bu şekilde planlanmasını önerenler de vardır (12). Günümüzde bilinen etiyojik faktörlerin hepsi incelense bile TGK nedeniyle başvuran hastaların yaklaşık yarısında belirgin bir neden saptanamamaktadır. Ancak hiçbir tedavi uygulanmasa dahi TGK hastalarının önemli bir kısmında canlı doğumla sonuçlanan başarılı gebeliklerin gerçekleştiği unutulmamalıdır.

Tekrarlayan gebelik kayıplarında etiyojik faktörler:

1- Genetik nedenler: Parental yapısal kromozomal bozukluklar, gebelik ürününe ait kromozomal bozukluklar

2- Endokrin nedenler: Luteal faz defekti,Hipo/ Hipertiroidi, D. Mellitus, PCOS, Hiperprolaktinemi

3- Enfeksiyona bağlı nedenler: U.Urealyticum,M.Hominis, T.Gondii, Rubella, CMV, Coxackie, Herpetik viruslar

4- Anatomik nedenler: Konjenital uterin anomaliler, Ascherman sendromu, Servikal yetmezlik, İn utero DES maruziyeti

5- İmmunolojik nedenler: Otoimmun, Alloimmun

6- Trombofili: Kalıtsal, Edinsel

7- Diğer: Sigara, Alkol, Kimyasallar, Radyasyon

Genetik nedenler

Anormal kromozomal yapıya sahip embrioların yaklaşık %90 kadarı nasıl olduğu tam olarak bilinmeyen bir yöntemle abortusa uğratılır(doğal seleksiyon). Abortus materyallerinde en sık trisomiler, monosomi X ve daha az sıklıkla triploidiler bulunur. Abortus materyalinde rastlanan en sık trisomi 16. kromozoma aittir. İlerleyen anne yaşı ile fetal kromozomal anomali riski belirgin artmaktadır. Baba yaşının ellinin üzerinde olması da anormal kromozomal yapıdaki spermelerin fertilizasyona katılma şansını arttırmaktadır. İn vitro fertilizasyon sonrası Preimplantasyon Genetik Tanı (PGT) uygulanan TGK grubundaki hastaların embriolarında anöploidi riski normal hastalara göre daha yüksek bulunurken, bu hastaların embriyo seleksiyonu sonrası oluşan gebeliklerinde abortus riski beklenenden daha az bulunmuştur (13,14). Abortus materyalinde kromozomal anomali araştırılan bir çalışmada, önceki abortuslarında anöploidi tesbit edilen hastalarda kromozomal anomali riski %70 civarında bulunurken, ilk abortuslarında kromozomal anomali bulunmayan hastalarda aynı oran %20 bulunmuştur (15). Abortus materyallerinin sitogenetik incelemesinin ailenin sonraki gebelik prognozu hakkında değerli bilgiler vermesine rağmen, abortus materyallerinin rutin incelemeye tabii tutulması yöntemin maliyeti ve getirisi göz önüne alındığında yaygın kabul görmemektedir.

TGK nedeniyle başvuran yirmi çiftten birinde parental kromozomal bozuklukluğuna rastlanır. En sık rastlanan kromozom bozukluğu dengeli translokasyonlardır. Homolog olmayan iki kromozom arasında segment değişimini

ifade eden resiprokal translokasyonlar bu grubun yarısından daha fazlasını oluşturur. Akrosentrik iki kromozomun kısa kollarını kaybederek sentromerde birleşmesini belirten robertsonian translokasyonlar ise %40 civarında görülmektedir. Daha nadir görülen diğer bir kromozomal bozukluk, kromozomdan kopan bir segmentin ters yönde tekrar aynı yere yapışması anlamına gelen inversiyonlardır. Gerek dengeli translokasyonlar gerekse inversiyon sonrası gelişen mayoz bölünmede yer değişimine uğrayan genetik materyalin ya duplikasyonu ya da eksikliği ortaya çıkacaktır. Parental kromozomal anomalili çiftlerin çoğunun sağlıklı çocuk sahibi olması mümkündür. Ancak çok nadir rastlanan homolog robertsonian translokasyonlarda fetal anöploidi kaçınılmaz olduğu için, aileye oosit/sperm donasyonu veya evlat edinme gibi yöntemler önerilmelidir. Parental kromozomal bozuklukları ortaya çıkarmada fenotipik bulgular, aile anamnezi veya reproduktif anamnez yeterli olmadığı için TGK ile başvuran hastalarda parental karyotipleme önerilmelidir. Bu sayede tekrarlayan düşüklerin sebebinin genetik olup olmadığı, genetik ise tekrarlama riskini de içeren genetik danışma verilme şansı mümkün olacaktır.

Endokrin faktörler

Luteal faz yetmezliği (LFY), hiperprolaktinemi, PCOS gibi hiperandrojenik durumlar, Tiroid fonksiyon bozuklukları ve diabetes mellitus gibi endokrinopatiler TGK nedenleri arasında sayılmaktadır (16). Siklus günü ile histolojik günleme arasında en az 3 gün fark bulunması ve bunun en az iki siklusda gösterilmesi şeklinde tariflenen LFY tekrarlayan gebelik kayıplarının tartışmalı nedenleri arasındadır (17). Endometrial biopsilerin değerlendirilmesinde konulan histolojik günleme tanısının değerlendiren kişiye göre farklı olabilmesi, hatta aynı preparatın değişik zamanlarda aynı kişi tarafından değerlendirilmesinde bile belirgin fark olması nedeniyle yöntemin, dolayısıyla tanının güvenilirliği azalmaktadır. Endometriyal biopsinin invaziv, ağrılı ve pahalı bir yöntem olması nedeniyle serum progesteron seviyelerinin tespiti alternatif teşhis yöntemi olarak önerilmiştir. Progesteronun pulsatil salgılanması nedeniyle tek örnek yerine, üç örnek alınmasını ve üçünün toplamının 30 ng/dL ve üzerinde olması halinde LFY ihtimalinin ortadan kalktığı belirtilmiştir. Ancak TGK grubunda uygulanan prospektif, kontrollü bir

çalışmada endometriyal biopsi sonuçlarına göre %17 LFY tespit edilirken serum progesteron seviyeleri tüm hastalarda normal bulunmuştur (18). Sonuç olarak standart teşhis kriterlerinin olmaması, kontrollü çalışmalarda TGK etiyojisindeki olası rolünün ispatlanamaması ve LFY'ne yönelik tedaviye rağmen TGK oranlarında iyileşme gösterilememesi nedeniyle, LFY'nin TGK üzerinde önemli bir rolü olmadığı düşünülmektedir. Pratik uygulamada ampirik progesteron takviyesi sıklıkla uygulanmakla birlikte yararı çok tartışmalıdır. Gebelik kaybını önlemeye yönelik hormon tedavisi ancak LFY teşhisi kesin olarak konmuş ise önerilmelidir. Aşık hipo veya hipertiroidi TGK nedenleri arasında sayılmaktadır. Ancak hafif veya subklinik tiroid disfonksiyonu TGK ile ilişkilendirilmemelidir. Antitiroid antikorların TGK grubundaki hastalarda daha sık rastlandığı, ancak bu antikorların gebelik üzerine olumsuz etkisi olmadığı bildirilmiştir (19). Kontrolsüz diabet spontan abortus riskini üç kat arttırmaktadır. Yüksek HbA1c seviyelerinin görüldüğü kontrolsüz diabette TGK riski artmaktadır (20). Kan şekeri ve HbA1c seviyeleri normal olan kontrollü diabette ise TGK riski normal popülasyondan farklı değildir.

Genel popülasyonda %1 oranında rastlanan oligomenore TGK grubunda daha sık görülmektedir. Yüksek LH ve androjen seviyelerinin varlığında TGK riski artmaktadır (21). Oligomenoreli hastalardan elde edilen abortus materyallerinde normal karyotip oranı daha yüksek bulunmuştur (22). Bu nedenle PCOS gibi oligomenore ve hiperandrojenemi ile karakterize durumlarda endometriyal reseptivitede oluşan değişikliklerin implantasyonu etkileyerek TGK riskini artırma ihtimali akla gelmektedir.

Enfeksiyona bağlı nedenler

Geçmişte M. Hominis, U. Urelyticum, T. Gondii, rubella, H. Simplex, Coxackievirus, Cytomegalovirus, Chlamydia ve Grup B β -Hemoloitik streptokok gibi birçok organizma gebelik kaybıyla ilişkilendirilmiştir. Preterm eylem ve doğumla yakın ilişkili bulunan Bakteriyel vajinoza TGK'lı hastalarda daha sık rastlanır, ancak bu hastalarda sonraki gebelikte abortus riski artmaz. Geleneksel olarak TGK etiyojisinde birçok enfeksiyon ajanı suçlanmışsa da, bugüne kadar TGK'da rolü ortaya konmuş, ispatlanmış hiçbir enfeksiyon etkeni bulunmamaktadır.

Anatomik nedenler

Tekrarlayan gebelik kayıplarının yaklaşık %5 kadarından sorumlu tutulan konjenital uterin anomalilerin, yaklaşık yarısını septat ve bicornuat uterus oluşturur. Uterin septumun varlığı uterin kavitede daralma, plasental vaskülarizasyon ve implantasyon ortamının bozulmasına yol açması sonucunda gebelik kayıplarına sebebiyet verdiği düşünülmektedir. Uterin septumun modern tedavisi histeroskopik rezeksiyondur. İşlem sırasında perforasyon riskini azaltmak amacıyla laparoskopik gözlem yapılmasını önerenler de vardır. Gebelik kaybına yol açan uterin anomaliler arasında daha nadiren unikornuat uterus, uterus didelphys, inutero ortamda dietilstilbesterol (DES) maruziyetine bağlı şekil bozuklukları ve Ascherman sendromu sayılabilir. Ascherman sendromunun tedavisinde histeroskopik adezyolizis sonrası intrakaviter rahim içi araç veya foley sonda yerleştirilmesi ve yüksek doz konjuge östrojen tedavisi önerilmektedir. Diğer anomalilerde metroplasti amacıyla uygun cerrahi tedaviler önerilebilir.

İkinci trimestırda görülen TKG'nın %10'u servikal yetmezlik nedeniyledir. Ağrısız dilatasyon ve efasmanı takiben, sıklıkla amniotik zarın yırtılması ve ardından fetal materyalin atılması şeklinde tipik kliniği bulunan servikal yetmezliğin klasik tedavisi vajinal serkilaj uygulamalarıdır. Önceki gebeliklerinde vajinal serkilaja rağmen başarılı elde edilememiş ise, hastaya 10. Hafta civarında abdominal serkilaj uygulanır ve gebelik miada ulaşınca sezaryanla sonlandırılmalıdır.

İmmunolojik nedenler

Otoimmün nedenler

Antifosfolipid sendrom (APS); vasküler tromboz ve/veya obstetrik morbiditelere (TKG, intrauterin gelişme geriliği (IUGR), preeklampsi, açıklanamayan fetal ölüm gibi) yol açan yüksek seviyelerde antifosfolipid antikor (APA) konsantrasyonlarının tespit edildiği otoimmün bir hastalıktır. Çeşitli APA'lar tariflenmişse de sadece Antikardiolipin antikor (aCL) ve Lupus antikoagulant (LA) yaygın kabul görmüştür. Antikoagulan özelliği nedeniyle LA varlığında fosfolipid bağımlı pıhtılaşma testleri uzar. Bu testler aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT), kaolin pıhtılaşma zamanı, seyreltilmiş Russel yılan zehiri zamanı (dRVVT) ve plazma pıhtılaşma zamanıdır. Bu testler arasında daha pratik olduğu için aPTT

yaygın kullanılmaktadır. Pıhtılaşma süresi uzayan örnekler mutlaka sağlıklı kontrol serumu ile karıştırılarak süredeki uzamanın faktör eksikliğine bağlı olup olmadığı test edilmelidir. Testin sonunda LA pozitif veya negatif olarak sonuç bildirilmelidir. Antikardiolipin antikor sonuçları negatif, pozitif (hafif, orta, şiddetli) olarak bildirilebileceği gibi kantitatif yöntemle (ELİSA) GPL (IgG), MPL (IgM) veya APL (IgA) ünitesi şeklinde ölçülebilmektedir. Dolaşımda geçici APA oluşabilmesi nedeniyle APA-pozitif sonuçlar en az 6 hafta sonra teyit edilmelidir. TGK'nın %5-10 kadarından APS sorumlu bulunmuştur. Abortusa yol açtığı iddia edilen mekanizmalar arasında uteroplental dolaşımda tromboz oluşumu ve/veya oluşan antikorların trofoblastların maternal spiral arterlere yeterli invazyon yapmasını engellemesi ve bu sayede etkin fetoplental dolaşımın gerçekleşmemesi olduğu düşünülmektedir. Antifosfolipide bağlı TGK tedavisinde immunsupresyon amaçlı kortikosteroidler ve intravenöz immunglobulin (IVIG), dolaşımda trombozu önleme amacıyla düşük doz aspirin (DDA) ve heparin veya bu ajanların çeşitli kombinasyonları önerilmiştir. Kortikosteroid (KS) tedavisi sonuçlarının heparin ve DDA tedavisinden daha iyi olmaması ve kortikosteroidlerin yolaçtığı preterm prematür membran rüptürü, preterm eylem, prematür doğum ve prematürite gibi obstetrik morbidite artışları ve yan etkileri nedeniyle günümüzde KS kullanımı artık tercih edilmemektedirler (23). KS kullanımı daha ziyade gebelik kayıplarının yanı sıra sistemik lupus eritramatozus (SLE) veya trombositopenisi olan hastalarda düşünülmelidir. Heparin ve aspirin tedavisi altındaki hastaların bir kısmına IVIG tedavisi eklenmiş ancak klinik sonuçlarda düzelme görülmemiştir (24). Yeterli sayıda, iyi düzenlenmiş çalışma olmaması nedeniyle ve pahalı olması nedeniyle IVIG TGK'da primer tedavi olarak önerilmemelidir. Aspirin kullanımının APS'lu hastalarda yararlı olduğunu gösteren çalışmaların yanı sıra aksini gösteren çalışmalarda vardır (25,26). Randomize, kontrollü iki çalışmada heparin ve aspirin kombinasyonu sadece aspirin kullanımından daha başarılı bulunmuştur (27,28). Yapılan bir metaanalizde kombinasyon tedavisinin APS'lu hastalarda gebelik kaybını %54 azalttığı belirtilmiştir (29). Ancak 98 hastanın katıldığı bir çalışmada aspirin ile kombinasyon tedavisi arasında canlı doğum oranlarında farklılık bulunmamıştır (sırasıyla %72 ve %78) (30). Antifosfolipid sendromlu ve TGK olan hastalarda optimum tedavi halen tartışmalıdır. Düşük titrajlı APS'lu hastalarda ve

APS teşhisi konmamış hastalarda kombinasyon tedavisi potansiyel yan etkiler nedeniyle tavsiye edilmemektedir. Heparin tedavisinin kanama ve osteoporotik yan etkileri bulunduğu için tedavide kalsiyum, D vitamini takviyesi ve egzersiz önerilmelidir.

Alloimmun nedenler

Endometriyumda bulunan immun ve inflamatuvar hücrelerin ürettiği sitokinler üreme fonksiyonunu etkileyebilirler. Gebelik ürününün yarısı genetik yük olarak paternal kökenli olmasına rağmen sağlıklı gebeliklerde immunolojik ret olayı görülmemektedir. Paternal genetik yüke yönelik immun cevabın nasıl engellendiği tam olarak anlaşılammıştır. Tekrarlayan gebelik kayıplarının oluşmasında öne sürülen mekanizmalar arasında anne-baba arasında HLA uyumu, maternal blokan antikor yokluğu ve maternal lökositotoksik antikorların yokluğu sayılabilir (31). Sağlıklı gebeliklerin yarısında blokan faktörlerin hiç üretilmediğinin tespit edilmesi ve bu faktörlerin genellikle 28. Haftadan sonra üretildiğinin ortaya çıkması nedeniyle geçmişte popüler teorilerden biri olan maternal blokan antikor teorisi, günümüzde geçerliliğini büyük oranda yitirmiştir. Öne sürülen alloimmun mekanizmalardan hiçbirinin insanlarda geçerliliği kesin olarak gösterilememişse de birçok ampirik tedavi yöntemi tarif edilmiştir. Bunlar arasında en popüler yöntemlerden biri annenin paternal lökositlerle immunizasyonudur. Canlı lökosit kullanımının potansiyel tehlikeleri arasında en önemlisi kan transfüzyonu ile geçen HIV, hepatit, CMV ve benzeri enfeksiyonların geçişidir. Hasta sayısının az olduğu, kalitesi sorgulanabilir nitelikteki çalışmalardan yapılan meta-analizlerde lökosit immunoterapisinin klinikde hafif düzeyde etkili olduğu sonucu çıksa da 183 hastanın katıldığı çok merkezli prospektif bir çalışmada lökosit immunoterapisi verilmesinin klinikde hiçbir katkısı olmadığı ortaya çıkmıştır (32,33). Etkinliği şüpheli, hangi yolla hangi dozda kimlere verileceği konusunda hiçbir standartizasyonu olmayan lökosit immunoterapisi günümüzdeki bilgilere göre TGK tedavisinde önerilmemelidir. Lökosit immunoterapisinin yerine önerilen intravenöz immunglobulin (IVIG) tedavisinin etkinliğini gösteren iyi planlanmış, geniş serili çalışmalar yoktur. Pahalı olmasının yanı sıra hipotansiyon, bulantı, baş ağrısı gibi genel semptomlara yol açan IVIG tedavisi ciddi anaflaksi riski, prion hastalığı ve Creutzfeld-Jacob benzeri hastalıklar açısından da risk taşımaktadır. İleri sürülen teorilerden biri olan

trofoblastlara karşı gelişen T helper-1 (TH-1) immunodistrofisinde progesteron uygulaması ile immunsupresyonun sağlanabileceği iddia edilmiştir (34).

Trombofililer

Normal gebelikte fibrinojen, faktör 2, 7, 10, 12 ve plazminojen aktivatör inhibitör-1(PAI-1) seviyelerinde artış ve protein S miktarlarında azalma sonucu pıhtılaşma eğilimi artmaktadır. Trombofili ise tromboz eğilimin arttığı bir grup pıhtılaşma bozukluklarını içermektedir (35). Koagulasyona artmış eğilim edinsel veya kalıtsal nedenlerle olabilir. Edinsel trombofililerin tipik örneği APS'un TGK'daki önemli rolü önceki bölümde bahsedilmiştir. Son zamanlarda diğer edinsel ve herediter trombofililerin TGK'da önemine dikkat çekilmiştir. Bu grupta aktive protein C rezistansı (aPCR), protrombin mutasyonu, hiperhomosisteinemi, protein S, protein C ve antitrombin III eksiklikleri sayılabilir (36,37). Kalıtsal trombozların en sık sebebi olan aPCR'nın %95'inde sebep bir nokta mutasyonudur (Faktör V Leiden, FVL). Bu mutasyon taşıyıcılarında tromboz riski heterozigotlarda 5-10 kat, homozigotlarda 80-100 kat artmıştır. Tromboz riski Heterozigot Protrombin mutasyon taşıyıcılarında (Faktör II G20210A) 2 kat, heterozigotAT-III eksikliğinde 20-50 kat, homozigot hiperhomosisteinemide (metilen tetrahidrofolat redüktaz; MTHFR C677T) ise 2 kat artmıştır. Kalıtsal trombofililerin sistemik tromboz ile bağlantısı bilinmemekte olmasına rağmen TGK üzerindeki etkisi halen yeterli çalışma ile gösterilememiştir. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada üç trombofilik gen mutasyonu 101 TGK'lı hastada araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda kontrol grubu ile TGK grubu arasında trombofilik gen mutasyon taşıyıcılığı açısından fark bulunamamıştır (38). Ancak 31 çalışmanın değerlendirildiği bir meta-analizde fetal kayıp ile herediter trombofili taşıyıcılığı arasında değişken bir ilişki bulunduğu bildirilmiştir (39). Trombofilik mutasyonların gebelik üzerinde olumsuz etkilerini gösteren çalışmaların çoğunluğunun retrospektif veriye dayalı olması ve hangi hemostatik testlerin uygulanması gerektiği hakkında henüz yeterli fikir birliği olmaması trombofiliye yönelik testlerin, TGK nedenlerinin birincil incelemesinde kullanılmasını tartışmalı hale getirmektedir (40). Preeklampsi, IUGR, ablasyo, fetal ölüm gibi komplikasyonları yaşayan kadınlar arasında trombofilik gen mutasyonlarından birinin bulunma ihtimali %52 bulunurken, normal hastalardan

oluşan kontrol grubunda aynı oran %17 bulunmuştur. Bu tip geç komplikasyonların tüm gebeliklerde görülme olasılığının %5 olması ve normal gruptaki gebeliklerde sorun oluşmaması trombofilik mutasyonlar ile TKG bağlantısını içeren iyi planlanmış yeni çalışmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir (41).

Diğer faktörler

Üreme sağlığı konusunda bilgilerimiz arttıkça bazı gebeliklerin neden hep başarısızlıkla sonuçlandığını daha iyi anlamaktayız. Günümüzde bilinen yöntemlere rağmen TKG nedeniyle incelenen hastaların yaklaşık yarısında kesin bir etiyolojik faktör bulunamamaktadır. Kafein, etanol, nikotin ve diğer sigara metabolitlerinin üreme sisteminde doza bağımlı negatif etkileri vardır. Arsenik, cıva, kurşun, etilen oksit, formaldehid ve benzeri kimyasallar ile radyasyon gibi etkenlerde üremeyi olumsuz etkilemektedir. Hiçbir neden saptanamayan TKG 'lı hastaların tedavi edilmeseler de büyük oranda canlı doğum yapmaları, hastalara umut olmasının yanı sıra bu konuda bilinenlerin bilinmeyenlerden çok daha az olduğunu gösteren bir bulgudur. Hastaların ilerki yaşamlarında iskemik kalp hastalığı riskinde 2.3 kat artış olduğunu gösteren retrospektif veriler nedeniyle TKG grubundaki hastalar genel sağlık hakkında bilgilendirilmeli ve yakın takip sağlanmalıdır (42).

ENDOMETRİYAL RESEPTİVİTE

İnsan gelişimi bir oositin fertilize olması ile başlar. Fertilizasyon birbirleriyle ilişkili karmaşık moleküler olaylar dizisi olup tek hücreli embriyo olan zigotun birinci mitoz bölünmesinin metafaz plağında anne baba kromozomlarının bir araya gelmesiyle son bulur. Fertilizasyon sonrası yaklaşık olarak altıncı günde, blastosist sıklıkla iç hücre kitlesine yakın bölgeden (embriyonik kutup) endometriyal epitelyuma tutunur (43). Östrojen ve progesteronun stromal hücreler üzerine bir dizi etkisiyle şekillenen desidual hücreler, blastokistin implantasyonunda çok önem taşır. Dönüşüm sonucunda geniş, soluk ve glikojenden zengin olan bu hücrelerin hala kesin fonksiyonları bilinmemesine rağmen embriyonun beslenmesi için elverişli, uygun bir çevre sağladığı açıktır (44). Sağlıklı embriyo gelişiminde çok önem taşıyan

endometriyum; hormonal değişikliklere hassas ve kompleks bir dokudur ve biyokimyasal faktörlerin çoğunun üretildiği ve damarsal yapı olarak değişen derecelerde kanlanan karmaşık bir dokudur. İmplantasyon boyunca endometriyumun kalitesinin anlaşılması için bazı kriterler vardır. Ancak hala bu değerlendirmeler subjektif olup tartışılmaktadır (45).

Üreme tıbbındaki son ilerlemelere rağmen, insan infertilitesine katkıda bulunan uterin reseptivitenin oynadığı rol açık değildir. İmplantasyon başarısızlığı, IVF gebelik oranlarında başarıyı etkileyen en önemli etmenlerden biridir (47,48). Endometriyumun ultrason ile, endometriyal biyopsi ve uterin sekresyonların analizi gibi diğer tekniklerle klinik değerlendirmesi üzerine yoğun çalışmalar yapılmıştır. Endometriyal fonksiyonların gelişmesi için sağaltıcı seçenekler önerilmiş ve test edilmiştir. Çok sayıda protein ve moleküller endometriyal gelişmeyi etkileyebilir, ancak onların implantasyon sürecine katkısı ve klinik kullanıma geçişi yeterince anlaşılammıştır. İnsan endometriyumu fertilitate belirleyici bir faktör olarak düşünülebilir (49). İnsan embriyosunun implantasyon süreci, endometriyum ve embriyo arasında uygun bir diyaloga ihtiyaç duyar. Anne açısından reseptif endometriyum bir ön koşul gibidir (50). İmplantasyon, blastokist ve endometriyal tabakalar arasında kendiliğinden gelişen dinamik bir süreç olmasına rağmen, implantasyon penceresi boyunca endometriyumun hazırlanması tamamen maternal kaynaklıdır. Aksine sağlıklı kadınların infertilitesinin en büyük sebebi üreme tıbbının henüz çözümlenememiş olan implantasyon başarısızlığıdır.

Transformasyon ve stromal desidualizasyondan oluşan sekretuar faz endometriyumda belirleyici hormon progesteron iken, proliferatif fazın dominant hormonu östrojendir (51). İmplantasyonda ovaryan steroidlere yanıt olarak oluşan uterin duyarlılık preresptif, reseptif ve nonreseptif şeklinde üç fazda programlanır. Bilindiği gibi blastokist, endometriyumun benzersiz morfolojik ve moleküler değişimleriyle karakterize reseptif fazda implante olur (52).

Reseptivitenin morfolojik belirteçleri pinopodlar

Birçok çalışma, ovulasyon sonrası altıncı ve sekizinci günler arasında, uterin reseptivitenin dar bir penceresi içinde blastokist implantasyonunun önemini vurgular. Endometriyum, reseptif olana kadar belirli morfolojik değişiklikler geçirir. Bu

morfolojik değişiklikler ilk olarak 1950'lerde Noyes ve ark. Tarafından tanımlanmıştır. Reseptivite kazanılan bu kısa ve kesin periyot 48 saatten daha azdır. Bu süreç endometriyum epitelyum hücrelerinin apikal membranları üzerinde gelişen geniş ve düz uzantıların oluştuğu bir dönemi kapsayıp 'implantasyon penceresi' olarak adlandırılır (53). Endometriyumun reseptif durumuna ek olarak uterusun nötral ve saldırgan dönemlerinin de olduğu düşünölmektedir. Nötral dönemde embriyo uterus içinde yaşayabilmekte, saldırgan dönemde ise aktif olarak yok edilmektedir. Hayvanlarda reseptif dönemin dışında yapılan uterus lavajlarında, embriyotoksik ajanlara da rastlanmıştır (54). İmplantasyon döneminde uterus boşluğuna uzanan epitelyal hücrelerin apikal membranları mikrovilluslarını kaybeder, geniş ve düz membran uzantıları gelişir. Pinositotik fonksiyonları olduğu düşünölmektedir bu uzantılara 1973'te Enders ve Nelson 'pinopod' adını vermişlerdir (55). Bazı araştırmacılar, uterin reseptivite gelişimi ve pinopod ekspresyonunun kesinlikle progesteron bağımlı olduğu, östrojenin yüksek dozunun da hem pinopod formasyonunu hem de blastokist implantasyonunu inhibe edeceğini rapor etmişlerdir. İmplantasyon penceresi 28 günlük tipik menstruel siklusun 20-23. Günleri ile sınırlıdır (56). Maksimum pinopod formasyonu olduğunda endometriyum lümen epitelyal hücrelerinde heparin bağlayıcı epidermal büyüme faktörünün yoğun bulunduğu ve pinopodlarla birlikte, implantasyonda önemli bir rol oynadıkları düşünölmüştür (57). Dahası, pinopod ekspresyonu, implantasyon penceresini lokalize etmede ve endometriyal reseptivitenin değerlendirilmesinde faydalı bir biyolojik belirteç olabilir (58,59). Aslında epitelyal yüzeydeki bu silya benzeri uzantılar şeklinde görölen pinopodlar, ışık mikroskobu ile de görölebilir (60). Ancak tarayıcı elektron mikroskobu ile kesin varlığı ve evresi tespit edilebilir (56,61). Endometriyal pinopodlar spesifik bir implantasyon belirteci olabilir. Ayrıca pinopodların sayısı, hastalar arasında farklıdır ve embriyo transferiden sonra sayısı ve implantasyon arasında güçlü bir bağlantı olduğu bulunmuştur (62,63).

Reseptivitenin biyokimyasal belirteçleri

Doğal sikluslarda gelişen embriyo ve olgunlaşan endometriyum arasında kendiliğinden oluşun bir uyum vardır. Östrojen ve progesteronun fizyolojik birçok rolünün taslağı çıkarılmasına rağmen bu moleküler ağ ve ortalama faaliyetleri büyük

oranda bilinmez. Bu moleküller; sitokinler, büyüme faktörleri, matriks metalloproteinazları (MMP), adezyon molekülleri, ekstraselüler matriks komponentleri ve homeboks element içeren genlerdir (46). Hücre adezyon molekül ailesi; integrinler, kadherinler, selektinler ve immunoglobulinlerdir.

İntegrinler transmembran proteini olup, embriyolojik gelişmenin hücre matriks ve hücre hücre yapışmasını içeren önemli fizyolojik olaylarının çoğuna katılır. a5B3 integrin ve onun ligandı osteopontin, trofoblastla ilk etkileşimde, endometriyum lümen epitelyum yüzeyinden immunohistokimya ile pozitif tespit edilmiştir. Epitelyal lokalizasyon ve ekspresyonuna bakarak a5B3'ün, embriyonik tutunma için potansiyel bir reseptör olabilir (64). İntegrinler, en iyi çalışan adezyon moleküllerindendir. İntegrin B3 ekspresyonunun artması endometriyal reseptivite için bir işaretir. Literatüre bakınca, a5B3 integrin, klinik için oldukça ümit vericidir (64).

Selektinler, lökost transendotelyal trafiğinde çok önemlidir. L-selektin damarlanmada lökositlerin yapışmasında gereklidir.

Kadherinler, kalsiyum bağımlı hücre-hücre adezyon mekanizmasından sorumlu glikoproteinlerin bir grubudur. Menstrüel siklusun özellikle orta-sekretuar fazında insan endometriyal epitelinde progesteronla kalsitonin salınımı uyarılır. Kalsitonin implantasyonda potansiyel bir düzenleyicidir artmış hücre içi kalsiyum salınımını izleyen endometriyal kalsitonin artışı E-kadherin ekspresyonunu düzenleyebilir ve blastokist yerleşiminde etkili olabilir.

İmmunoglobulinler, endometriyumun hem stroma hemde epitelyal hücrelerinden salındıkları için patofizyolojide önemlidirler. İntraselüler adezyon molekülü-1, iki farklı seviyede aktive olarak 'endometriyozis' patogenezinde rol oynar. Bu molekülün yüksek yapışma potansiyeli de endometriyozisin sık tekrarama nedenini açıklar (65).

Musinler (MUC), adezyon sağlayan moleküllerin aksine anti-adeziv etkili bir gruptur. Endometriyal musinlerin salınımı ilginçtir. Musin ailesinden olan MUC-1 embriyo implantasyon için doğru yer ve doğru zamanı buluna kadar embriyoyu kovan bir moleküldür. Bu durumda lokal aktivasyon mekanizmalarına ihtiyaç vardır. Embriyonun MUC-1 engelini aşmak için eksprese ettiği tetikleyici faktörler olabilir (66).

Sitokinler, çok sayıda fizyolojik role sahip küçük multifonksiyonel glikoproteinlerdir. Bu moleküllerin davranışları, vücuttaki implantasyon ve immün fonksiyonla ilgili çoğu süreçle bağlantılıdır. Sitokinler ve kimokinler, implantasyon bölgesinde trofoblast farklılaşması ve trafiğinde rol oynar. İmplantasyon ve plesantasyonda önemli bir potansiyele sahiptir (67). İnterlökünlerden (IL), IL-1, IL-6, IL-10, IL-11, IL-15 ve IL-18, lösemi inhibitör faktör (LIF), koloni uyarıcı faktör (KUF), tümör nekrozis faktör (TNF), ve transforming growth faktör (TGF) bu geniş ailenin en kritik öneme sahip üyeleridir (52). LIF ekspresyonu luteal fazda maksimumdur ancak bu düzenlemede steroid hormonlarının etkisinin nasıl olduğu bilinmemektedir. IL-1 başarılı bir gebelik oluşumunda çok önemli bir rol oynayabilir. Bu sistem insan endometriyumunda menstrual siklus boyunca hem glandüler hem de stromal hücrelerde tespit edilmiştir. IL-1 aktivasyonundaki düzenlemenin bozulması endometriyozis patogenezinde rol oynayabilir (68). Endometriyal dokudaki IL ekspresyonunda değişimlerin olması infertil vakalarla bağlantılı bulunmuştur. İnsan endometriyumunda IL-6 ekspresyonunun, luteal faz boyunca en yüksek seviyelere ulaşması geçici bir durum olarak değerlendirilir (69). IL-6 reseptörünün blastokist, trofoblast ve endometriyum tarafından eksprese edildiği ortaya çıkarılmıştır.

Prostaglandinlerin (PG) başarılı embriyo implantasyonundaki rolü son zamanlarda çok tartışılan bir konudur. Bilindiği gibi başarılı İVF sonuçları embriyonun kalitesi ile yakından ilgilidir. Son çalışmalarda PGI₂ veya prostosiklinlerin, embriyonun in vitro gelişimini çok ileri düzeylere götürdüğü ve implantasyon potansiyelini zenginleştirdiği bulunmuştur. Ancak PGI₂ ile ilgili mekanizmalar henüz açık değildir. Peroksizom proliferatör aktive reseptör-d (PPAR-d) implantasyon bölgesinde PGI₂'nin etkisiyle ortaya çıkar. İmplantasyon öncesinde embriyolar reverse transcription polymerase chain reaction yöntemiyle incelenmiştir ve bu embriyoların PPAR-d eksprese ettiği görülmüştür (70). Ekzojen PG uygulaması embriyo implantasyonunu doğru zamanda yeniden düzenleyebilir (71). PG konsantrasyonunun, endometriyozisli kadınlarda arttığı rapor edilmiştir. PG'ler implantasyon penceresinde, zamanlama aşamasında önemlidir. Blastokist implantasyonunda zamanlamada gecikme, embriyonun serviks duvarına tutunmasına, anormal plesantasyona ve fetal emilime neden olabilir.

HİSTERESKOPI

Histeroskopi (H/S), servikal kanaldan uterin kaviteye ulaştırılan histeroskop ile intrauterin diagnostik ve terapötik işlemlerin yapılabildiği endoskopik bir prosedürdür.

Tarihçe: Yaklaşık 150 yıldır histeroskopi ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Son 25 yıl içinde enstrümantasyonda geliştirilen teknolojik ilerlemeler sonucunda bu işlem bir ofis prosedürü haline gelmiştir. İlk başarılı histeroskopi 1869'da Pantaleoni tarafından uterin kanamalı bir postmenapozal vakada uygulanmış ve endometriyal polip bulunmuştur (72). İzah edilemeyen uterin kanama histeroskopinin en eski ve en sık endikasyon olmasıyla birlikte uterin kavitenin gözlenmesindeki en önemli engel yine kandır. Bu engel histeroskopinin gelişmesinin gecikmesindeki en önemli nedendir. Charles David 1907'de kontakt histeroskopi için kullanılan enstrümantasyonu tanımlamıştır (73). 1914'de Heineberg su irrigasyon sistemini geliştirmiştir. I.C Rubin 1925 yılında panoramik karbondioksit histeroskopu ile yaptığı çalışmalarla, girişimin siklusun proliferatif fazında yapılması gerektiğini, karbondioksitin iyi bir distansiyon ortamı olduğunu ortaya koymuştur. Rubin'in sistem ve kavramları bugün bile histeroskopide geçerliliğini korumakta ve çalışmalara esas teşkil etmektedir. Rubin ayrıca direkt gözlem altında doku örnekleri alınabileceğini de düşünmüştür (74). İlk kez 1952'de Vulmiere, Fourestier ve Gladu tarafından geliştirilen ışık kaynaklarının kullanılmaya başlanması histeroskopinin gelişmesindeki en büyük ilerlemedir (75). 1957'de Palmer 5mm'lik histeroskop kullanımı ile servikal dilastasyon gereğini gidermeye çalışmıştır (76). 1970 yılında Endstörn ve fernstrom endometriyal kavitenin %32 dekstran ile distansiyonunu içeren histeroskopik tekniği tanımlamışlardır.

Histeroskopi ile intrauterin adezyonların tedavisi ilk olarak 1973'de bildirilmiştir (77). 1980'de ise Jacques Hamou, panoramik görüntünün yanı sıra 20x, 60x, 150x büyütme ayrıntılı kontakt incelmeye olanak tanıyan ve kolayca uygulanabilen mikrokolpohisteroskopiye uygulamaya sokmuştur (78). 1981'de Goldrath tarafından "Touch" tekniğinin, 1988'de ise Löffler tarafından "nontouch" tekniğinin uygulamaya sokulması ile laser histeroskopik teknikler içinde yerini almıştır.

Histeroskopi Endikasyonları (79):

1. İnfertilite

a. Tanı:

- Müllerian füzyon defektlerinin (MFD) araştırılması
- İntrauterin adezyon araştırılması
- İzah edilemeyen infertilite
- İn vitro fertilizasyon (IVF) ve tubal mikroşirurji öncesi
- Salpingoskopi

b. Tedavi:

- Uterin septum insizyonu
- Histeroskopik adezyolizis
- Tubal kanülasyon ve balon tüboplasti

2. Anormal uterin kanama

a. Tanı:

- Premenapozal ve postmenapozal açıklanamayan uterin kanama
- Postpartum ve postabortus kanama
- Mol gebeliği
- Direkt görüş anında endometriyal biopsi

b. Tedavi:

- Submüköz myom ve endometriyal polip eksizyonu
- Parsiyel endometriyal ablasyon

3. Disloke intrauterin rahim içi araç lokalizasyonunun saptanması ve çıkarılması

4. Serviks ve endometriyumun premalign ve erken evre malign lezyonlarının araştırılması

5. Diğer kullanım alanları:

- Fetoskopi
- Korion villus biopsisi
- Histeroskopik tubal sterilizasyon (80)

Histeroskopi kontredikasyonları:

A. Kesin kontrendikasyonlar

1. Akut adneksal veya endometriyal enfeksiyon

2. İnvazif serviks karsinomu

3. Şiddetli intrauterin kanama

B. Relatif Kontrendikasyonlar

1. Erken postpartum ve postabortus evre
2. Serviks stenozu ve servikal konizasyon sonrası
3. İntrauterin gebelik (Disloke rahim içi araç ve gebelik, korion villus biopsisi ve fetoskopi olguları hariç).

Endometrium kanserinde histeroskopinin distansiyon mediası aracılığı ile yayılıp prognozu kötüleştirdiğine ait kanıt olmadığını söyleyen çalışmalar olduğu gibi aksini söyleyen çalışmalar bulunmaktadır (82,83). Histeroskopi, gebeliğin bozulmasına neden olabileceğinden genişletici mediaların embriyo üzerine etkisi bilinmediğinden, gebelikte seyrek kullanılmaktadır. Gebeliğin implantasyon fazında uygun biçimde yapılan histeroskopinin sanılandan daha az bir riski olabilir (81). Koryon villus örnekleme histeroskopik yapılabildiği halde transabdominal ultrasonografi eşliğinde yapılması tercih edilmektedir.

Histeroskopi komplikasyonları (84,85):

Histeroskopinin komplikasyonları travmatik komplikasyonlar, hemorajik komplikasyonlar ,distansiyon mediası komplikasyonları ve enfeksiyon olarak sınıflanabilir.

a) Travmatik komplikasyonlar: Servikal laserasyon, uterin perforasyon travmatik komplikasyonlardır. Servikal laserasyon stenozu olan vakalarda dilatasyon gerektiğinde olabilmektedir. Uterin perforasyon riskine karşın uterin kaviteye ulaşıldığı düşünüldüğü anda öncelikle tubal ostiumlar gibi kaviteyi belirleyici önemli yapılar hemen saptanmalıdır. Distansiyon mediasının akım hızında ani artma ve uterin kavitedeki tansiyonunda ani kayıp perforasyonun önemli belirtilerindendir. Gerekli olduğu düşünülen durumlarda laparoskopi ile hemostaz ve batin içi organ hasarı araştırılabilir.

b) Hemorajik komplikasyonlar: Mekanik metodlar veya rezekteskop gibi termal enerjiyle myometriyum hasarı sonucu olabilir. Genelde operasyon sırasındaki kanama, distansiyon ortamının basıncını arttırarak arteriyel basıncı geçip uterin duvarlara basınç yapmak suretiyle durdurulabilir. Sonra kanayan damar ball elektrod kullanılarak koagüle edilebilir. Gerekli durumlarda postoperatif intrakaviter balon uygulanabilir.

c) *Distansiyon ortamına bağlı komplikasyonlar*:Hiskeroskopide distansiyon ortamları olarak karbondioksit, dekstran 70'in %10 dekstroz solüsyonu, düşük viskoziteli elektrolitli veya elektrolitsiz sıvılar kullanılmaktadır. Distansiyon ortamına bağlı komplikasyonların görülme sıklığı %4'ün altındadır. Karbondioksit gazının kullanılması gaz embolisi riskini de getirmiştir. Maksimum 100mmHg basınçta ve 100ml/dk akım hızında kullanıldığında karbondioksit güvenilir bir mediyumdur. Karbondioksit kanda çözünür hale gelir ve ventilasyon ile atılır. Karbondioksitin vasküler intravazasyonunu hesaplamak mümkün değildir. Karbondioksitin güvenilirliği ventilasyonu yeterli hastada gösterilmiştir. Verilen karbondioksit miktarı artmış PCO₂ veya azalmış PO₂ değerlerine neden oluyorsa riskler ortaya çıkar. Sonuç olarak oluşan metabolik asidoz kardiyak düzensizliklere yol açar. Yüksek basınçlarda karbondioksit tubal yollardan peritoneal kaviteye ulaşarak, omuz ağrısına neden olabilmektedir. Hyskon %32'e (dextran 70) bağlı oluşan problemler; nonkardiyojenik pulmoner ödem, alerjik reaksiyonlar ve koagülopatilerdir. Pulmoner abnormaliteler büyük olasılıkla vasküler sisteme karşı oluşan bir direkt toksik etki sonucunda değil de, dextranın plazma genişletici etkisi nedeniyle oluşur. Dolaşıma karışan her 100ml Hyskon, intravasküler hacimde 860mL'lik artışa yol açar. Dextranın pıhtılaşmayı önleyen özellikleri nedeniyle aşırı miktarda ekstravazasyonlu koagülopatilere yol açtığı bilinmektedir. Elektrolitsiz irrigasyon sıvısının uterin venler aracılığıyla sistemik dolaşıma geçmesi ve sonuçta sağ atriyuma gelmesiyle pulmoner ödem, hipernatremi, kanama diyatezi ortaya çıkar. Düşük viskoziteli sıvılar operatif histeroskopide en sık kullanılan distansiyon medyumudur. Bunlara isotonik ve ringer laktat solüsyonları dâhildir. Dolaşıma geçtiğinde öbür düşük viskoziteli sıvılara oranla daha düşük risk taşımalarına rağmen bunlar elektrolit içerdiği için rezektoskop ile birlikte ve elektrocerrahide kullanılamazlar. Elektrolitsiz sıvılar arasında glisin, sorbitol, mannitol vardır. Düşük viskoziteli sıvıların kullanımı sürekli akım histeroskoplarında idealdir. Elektrolitsiz sıvılar dolaşıma aşırı miktarda geçtiklerinde hipoosmolarite ve hiponatremiye neden olabilirler. Eğer bu durum hızla fark edilemez ve agresif olarak tedavi edilmezse, beyinde ödeme ve beyin sapında herniasyona yol açarak ölüme neden olabilir. Glisin gliksik asit ve amonyağa metabolize olmaktadır. Bu nedenle amonyak artışına bağlı ensefalopatiye neden olabilmektedir. Hiponatremi derinliğine oranla daha belirgin

merkezi sinir sistemi depresyonunu içeren klinik tabloda amonyak toksisitesi düşünölmelidir.

d) İnfeksiyonlar: 4000 diagnostik histerokopide 0.2%lik enfeksiyon insidansı bildirilmiştir. Bu enfeksiyonlardan sadece bir tanesi önem taşıyan bir enfeksiyondur, o da yakın zamanda yapılmış bir laparatomiyi takip eden bir histerokopiydi. Enfeksiyon riski operatif histeroskopi sonrası artar ve endometriyal ablasyonu takiben 0.8%lik insidans belirlenmiştir. Histeroskopik myomektomi rezektoskopun uterin kaviteye yerleştirilip çıkarılma frekansı nedeniyle %2'lik risk taşır. Proflaktik antibiyotik kullanımı postoperatif enfeksiyon riskini azaltabilir ve pelvik enflamatuvar hastalık hikayesi olan hastalar proflaktik antibiyotik almalıdır.

MATERYAL VE METOD

Çalışmamızda 1.12.2013 tarihinden 1.7.2014 tarihine kadar Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniğine başvuran, üreme çağındaki (18-35 yaş), açıklanamayan tekrarlayan gebelik kaybı olan (iki ve daha fazla düşüğü olmuş ve araştırmalar sonucu bir nedeni bulunamamış) hasta kadınlarla yine aynı yaş aralığında olup düşüğü olmamış en az bir sağlıklı çocuğu olan sağlıklı gönüllüler karşılaştırıldı. Bu olgular; hasta grup (genetik nedenlerin ekartasyonu için maternal ve paternal kromozom analiz sonuçları normal çıkmış, endokrin nedenlerin ekartasyonu için adet 5. günü bazal hormonlar (LH, FSH, E2, PRL, TSH) sonuçları normal çıkmış, enfeksiyonu olmayan, anatomik nedenlerin ekartasyonu için usg ve hsg ile yapılan değerlendirmede endometrial kavitesi olağan görülen, trombofili paneli normal olan) ile bazal hormonları normal ve usg'de endometrial kavitesi olağan olup halihazırda jinekolojik benign nedenlerle (kronik pelvik ağrı, uterin desensus, basit over kisti, tubal sterilazasyon,...) tarafımızca zaten cerrahi planlanmış olan gönüllü gruptan oluşmaktadır.

Tüm olguların (40 hasta + 30 kontrol = 70 toplam) tek hemşire tarafından boy ve kilo ölçümleri yapılarak VKİ değerleri hesaplandı.

Bazal endometriyal değerlendirme için adet 3. ile 5. gününde tüm vakalar GE Voluson® E6 (GE medikal sistemleri, Zipf, Avusturya) ultrason ve IC5-9-D/GYN transducer 6,5 cm/1,2/15 Hz. transvajinal prob ile bakıldı. Endometriyal kalınlık ölçümü ve endometriyum tiplendirmesi için uterus her zaman longitudinal düzlemdeyken değerlendirildi. Aynı gün bazal hormonal değerlendirme için 8 saat açlık sonrası kandan FSH, LH, E2, PRL, progesteron, TSH, ft3 ve ft4 biyokimya laboratuvarında bakıldı. D vitamini istendi. Vakalarla adet 11.-13. gününe randevulaşıldı.

Folükül stimuli edici hormon (FSH), luteinize edici hormon (LH), total testosteron (T), estradiol (E2) ve prolaktin (PRL) seviyeleri electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) (Elecsys Kit; Roche Diagnostics, Almanya) kullanılarak ölçüldü. Serum vitamin D seviyeleri ise serum 25-OH-VD seviyelerinin chemiluminescence immunoassay (Liaison Assay; Diasorin, İtalya) ile

ölçülmesi ile değerlendirildi. 25-OH-VD değerleri iki kategoriye ayrıldı. 25-OH-VD \leq 9 ng/ml (şiddetli VD eksikliği), 25-OH-VD \leq 19 ng/ml (VD eksikliği) ve 25-OH-VD \geq 20 ng/ml (normal) olarak kabul edildi (86). 25-OH-VD \geq 50 ng/ml olan vakamız yoktu. Mevsimsel değişkenlik ortadan kaldırıldı.

Ovulasyon tespiti için vakaların LH tetiği ve/veya ultrasonda matür folikülün görülmesi veya ovulasyon belirtisinin izlenmesi şart koşuldu. Aynı gün vakalara endometriyal kalınlık ölçümü ve endometriyal tiplendirme uygulandı. LH surge LH+7 veya progesteron+5, ovulasyon+6. gününde implantasyon penceresi olarak kabul edilerek vakalarla tekrar randevulaşıldı.

Midsekretuar dönemde vakalara endometriyal kalınlık ve tiplene için yapılan USG tekrarlandı. D vitamini yenilendi.

Ultrasonografik skorlama: (87)

Endometriyal kalınlık: periovulatar dönemde: < 0,7 cm = skor 0

0,7 – 1,4 cm = skor 1

Midluteal dönemde: <1,0 cm = skor 0

\geq 1,0 cm = 1

Endometriyum tip: homojen hiperekojenik endometriyum = skor 0

trilaminer (hiperekojen bir duvarla çevrili, merkezinde ekojen çigi olan hipoekojenik) endometriyum = skor 1





Şekil 1: Endometriyumun ultrasonografik değerlendirmesi (foto 1: homojen hiperekojenik tip endometriyum = skor 0; foto2: trilaminer tip(hiperekojen bir duvarla çevrili, merkezinde ekojen çigi olan hipoekojenik) endometriyum = skor 1

Preoperatif olarak hazırlanan hasta histeroskopi uygulanmak üzere ameliyathaneye alındı. Genel anestezi altında işlem uygulandı.

Histeroskopi için kullanılan aletler:

- 1) **Histeroskop:** 30 derece açılı 30 cm uzunlukta 4mm çaplı olympus marka histeroskop.
- 2) **Metal muayene kılıfı:** Distansiyon, irrigasyon kanalları ve bir de semirijid enstrumanlar için ayrı bir kanal içeren 5,5 mm lik metal kılıf.
- 3) **Pompa sistemi:** İzotonik NaCl sıvı torbasına geçirilmiş manşonlu infüzyon pompası.
- 4) **Işık kaynağı:** Storz 250 watt halojen ışık kaynağı
- 5) **Bilgisayar:** İşlemin tamamı her hasta için DV studio avio programı kullanan bir bilgisayarla kayıt edilmiştir.
- 6) **Monitör:** LG 52 ekran monitör.
- 7) **Kamera ve video**

Genel anestezi eşliğinde hastaya spekulum uygulaması ardından vajen batticon solüsyonla temizlendi ve tenekulum ile tutuldu. İşleme direkt monitörden gözlemlenerek serviks ve servikal kanalın değerlendirilmesi ile başlandı. Daha sonra

internal os geçilerek uterin kavite panoramik olarak incelendi. Her iki tubal ostium tek tek değerlendirildi. Tüm uterin kavite duvarları ayrıntılı olarak değerlendirilerek işleme son verildi. İşlem sırasında gözlenenler histeroskopi kayıt formuna ve histeroskopi defterine kayıt edildi. H/S de kullandığımız tüm aletler 20 dakika gluteraldehit solusyonunda bekletildikten sonra serum fizyolojik ile yıkandı. Distansiyon mediası olarak %0,9 izotonik NaCl kullanıldı. Yeterli intrauterin basıncın sağlanması için manşonlu infuzyon pompasından faydalanıldı. Histeroskopi işlemi, konuda tecrübeli cerrah tarafından asistan doktorların eşliğinde uygulandı. Yapılan tüm histeroskopi işlemlerinin görüntüleri bilgisayar ile kayıt altına alındı. Hasta istediği takdirde DVD'ye kopyalanarak hastaya verildi.

H/S sırasında küret ile uterus corpus posterior endometriyumdan biyopsi yapıldı. Sağlıklı gönüllüler için bu işlem hali hazırda yapılması planlanmış olan jinekolojik operasyon sırasında gerçekleştirildi. Alınan biyopsiler aynı cerrah tarafından iki eşit parçaya ayrılarak iki ayrı steril biyopsi kaplarına konuldu. Immunohistokimyasal incelemeye gidecek olan biyopsi materyali formalin fiksatif içine konulup işlem sonrası derhal patoloji birimine ulaştırıldı. Diğer biyopsi materyali ise %2,5'lük gluteraldehit solusyonu içerisinde işlem sonrası derhal elektron mikroskopisi birimine ulaştırıldı.

Histeroskopi sonrası hastalar, serviste iki saat vaginal kanama takibine alındı. Tüm hastalar herhangi bir komplikasyon oluşmadan poliklinik kontrolü önerilerek taburcu edildi.

İmmunohistokimyasal inceleme:

Tüm vakalar (62 adet: 50 hasta + 12 kontrol) formalin içinde patoloji kliniğine ulaştırıldı. İmmunohistokimyasal boyama öncesi tüm spesmenler genel patolojik inceleme için uygun alanları doku takibinden sonra parafin bloklar hazırlanarak Hematoksilen-Eosin ile boyandı. Hazırlanan preparatlardan patolojik tanı ve Nages yöntemi uygulanarak endometriyal günleme yapıldı. Yeterli doku bulunmayan, luteal faz dönemine uymayan preparatlar belirlenerek çalışma dışı bırakıldı. Toplam 59 vaka olmak üzere 48 hasta ve 11 kontrol grubu oluşturularak immünohistokimyasal boyama için eski parafin bloklardan tekrar üçer kesit alındı. Olgulara ait 3 µm' lik parafin kesitler bir gece etüvde 60°C' de bekletildi. Konsante olan tüm antikolarlar

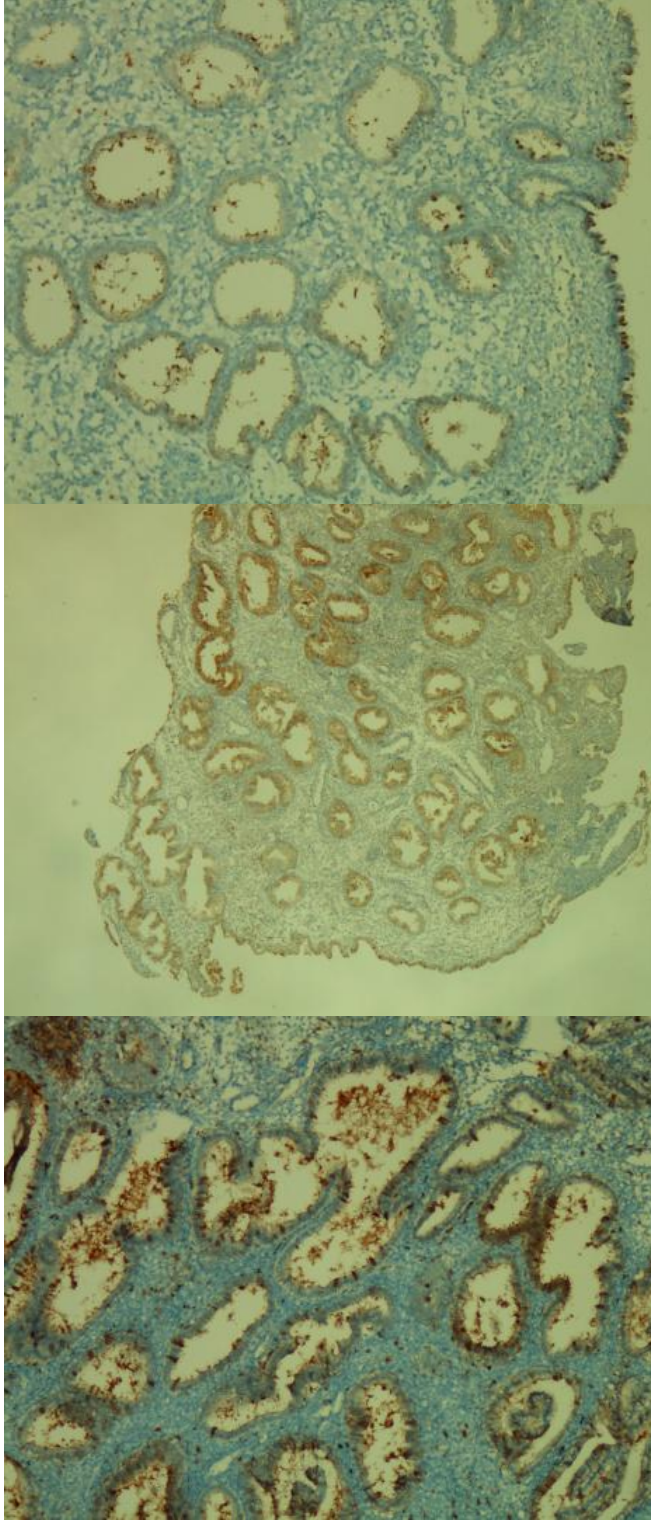
uygun yüzdelere dile edildi. Tüm vakalardan birbirinin aynısı üç grup oluşturuldu. Birinci gruptaki spesmenler Annexin A1 poliklonal antikoru (1:500, Thermo Fisher, Ltd, USA) ile, ikinci gruptakiler NP-1 poliklonal antikoru (1:25, Thermo Fisher, Ltd, USA) ile, üçüncü gruptakiler de Osteopontin poliklonal antikoru (1:50, Thermo Fisher, Ltd, USA) ile boyanmak üzere tam otomatik kapalı sistem VENTANA BENCHMARK XT ile çalışıldı. Boyama işlemi bittikten sonra lamalar yıkama işlemine alındı. Lamlar yıkandıktan sonra alkol serilerinden geçirildi ve lamalar oda koşullarında kurumaya bırakıldı. Ardından ksilen solusyonundan geçirilip entellan damlatılarak lamelle kapatıldı.

Mikroskopik inceleme:

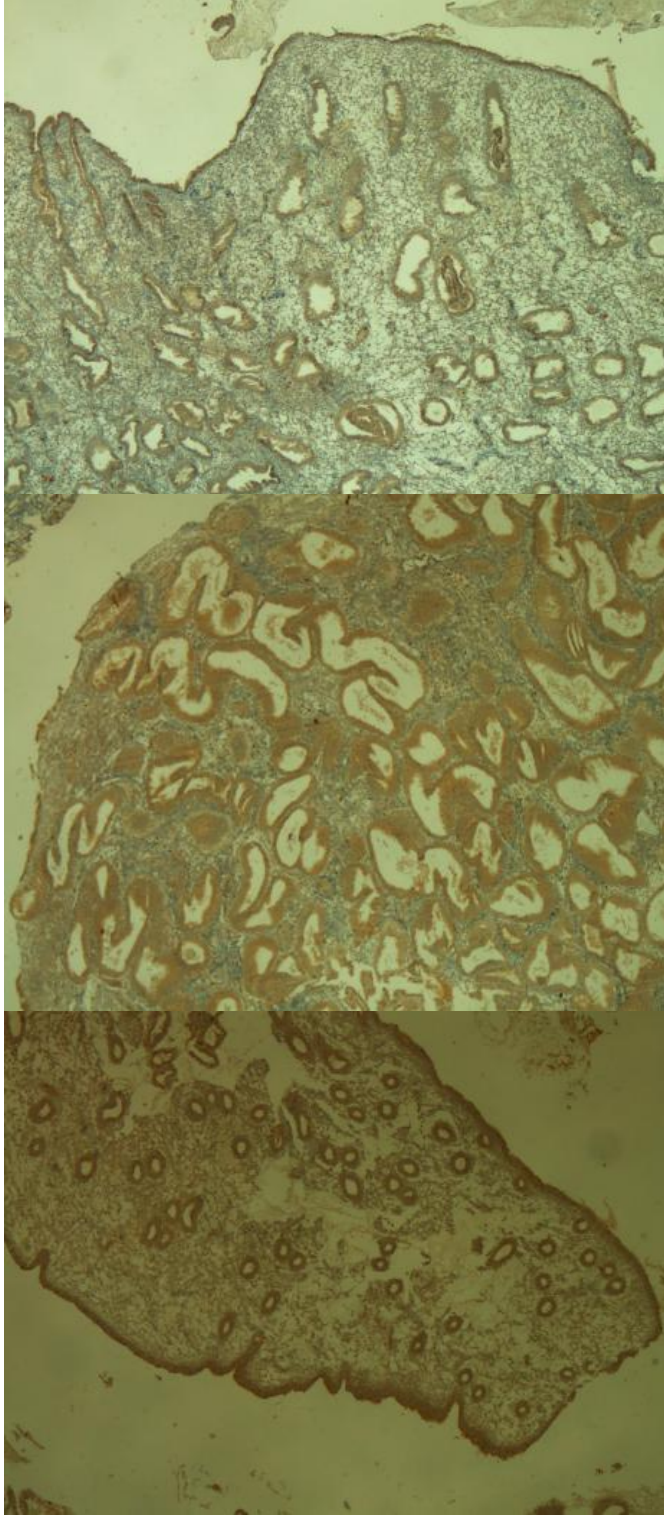
Rastgele seçilen preparatlar hasta veya kontrol grubu olduğu bilinmeden tek patolog tarafından değerlendirildi. Değerlendirmenin yapılacağı alan tespiti için x40 (x10 oküler lensile x4 objektif lensi) ve x100 (x10 oküler lens ile x10 objektif lensi) büyütmeli (Nikon Eclipse E200, Tokyo, Japonya) mikroskop kullanıldı. Preparatların görüş alanı içerisindeki endometriyum yüzey epiteli, endometriyum gland epiteli ve endometriyum stroması örnek bir çalışmanın skorlama sistemi kullanılarak değerlendirildi (88).

İmmünohistokimyasal skorlama:

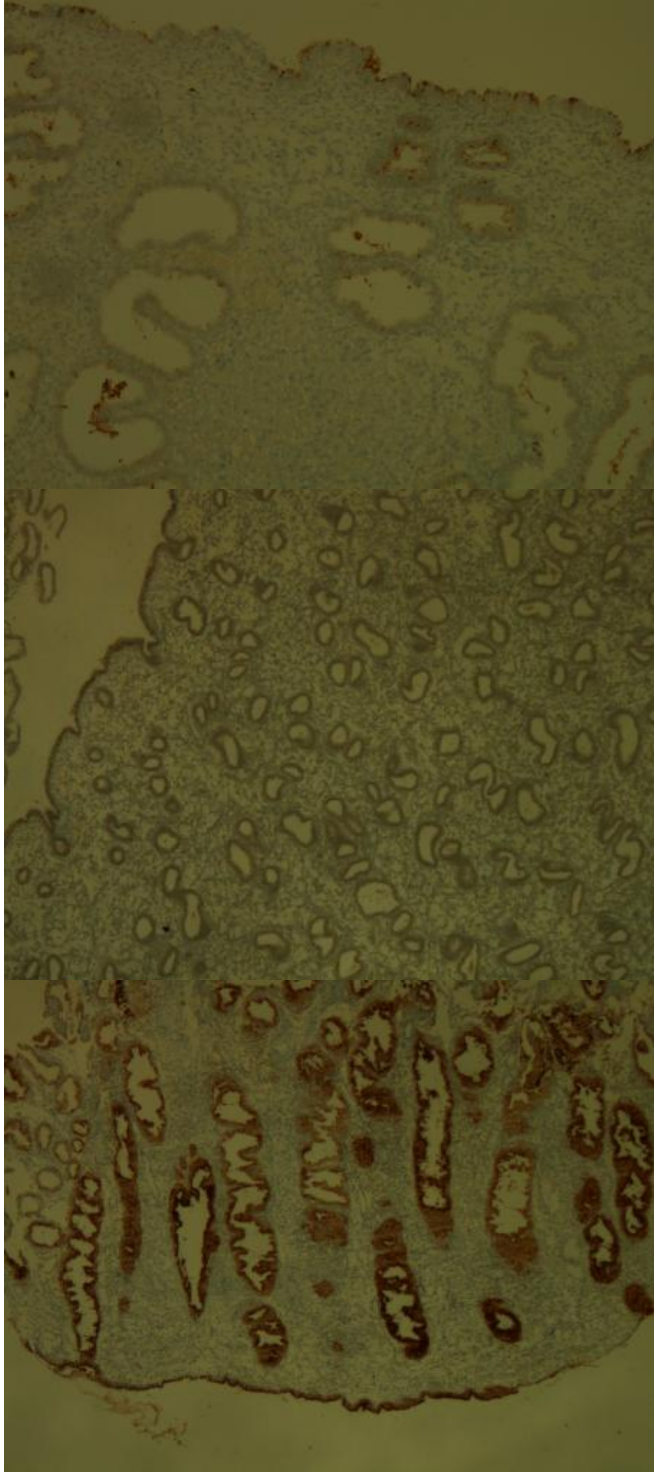
Annexin 1, NP-1 ve Osteopontin ekspresyonlarının yoğunluğu semikantitatif bir skorlama sistemi kullanılarak yapıldı (88). Bu skorlama için kullanılan skala 0 ile 3 arasında puan verilerek yapıldı. 0: negatif, boyanma hiç yok; 1: zayıf boyanma; 2: orta dereceli boyanma; 3: güçlü boyanma. Böylece skor 0 ve 1 düşük dereceli ekspresyon; skor 2 ve 3 ise yüksek dereceli ekspresyon olarak değerlendirildi.



Şekil 2: ANXA-1 ile boyanmış patoloji spesmenleri (foto 1: skor 1, az boyanma, yüzey epitelinde boyanma belirgin; foto 2: skor2, orta dereceli boyanma, yüzey ve gland epitelinde boyanma belirgin; foto 3: skor 3, iyi boyanma, gland ve stromal boyanma belirgin) (foto 1X4, foto 2X4, foto 3X10)



Şekil 3: NP-1 ile boyanmış patoloji spesmenleri (foto 1: skor 1, az boyanma, yüzey ve gland epitelinde boyanma belirgin; foto 2: skor2, orta dereceli boyanma, gland epitelinde boyanma belirgin; foto 3: skor 3, iyi boyanma, her alanda boyanma belirgin) (foto 1X10, foto 2X10, foto 3X4)



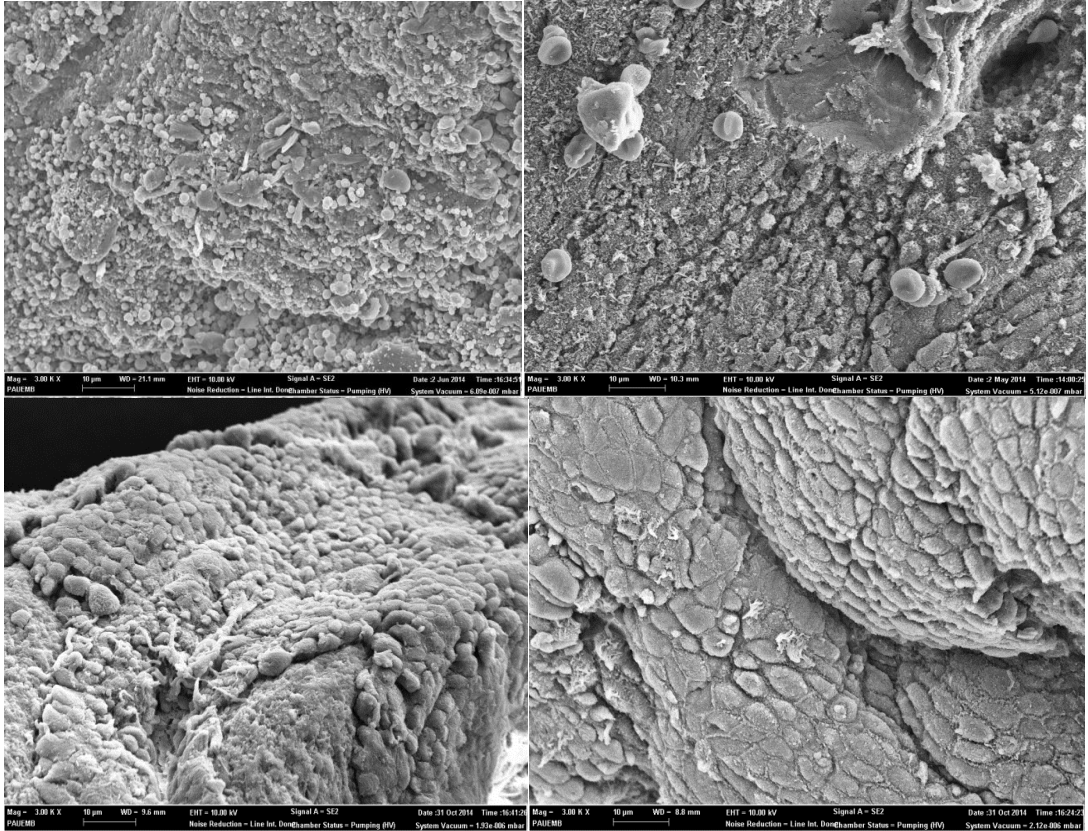
Şekil 4: OPN ile boyanmış patoloji spesmenleri (foto 1: skor 1, az boyanma, yüzey epitelinde boyanma belirgin; foto 2: skor2, orta dereceli boyanma, yüzey ve gland epitelinde boyanma belirgin; foto 3: skor 3, iyi boyanma, her alanda boyanma belirgin) (foto 1X4, foto 2X4, foto 3X4)

Scanning elektron mikroskopik inceleme:

Endometrium doku örnekleri, taramalı elektron mikroskobu için % 2,5'lük gluteraldehitli solusyonda tespit edildikten sonra, sodyum fosfat tamponda yıkandı ve rutin elektron mikroskopi takip işlemlerinden geçirildi. Kritik noktada kurutulan örnekler, stamlara yerleştirildi ve altınla kaplandı. Alan Taramalı Emisyon Mikroskobunda (FESEM-Carl Zeiss, Supra 40 VP) incelenen örneklerin mikrografları alındı (X3000 ve X5000 orijinal büyütme).

SEM skorlama:

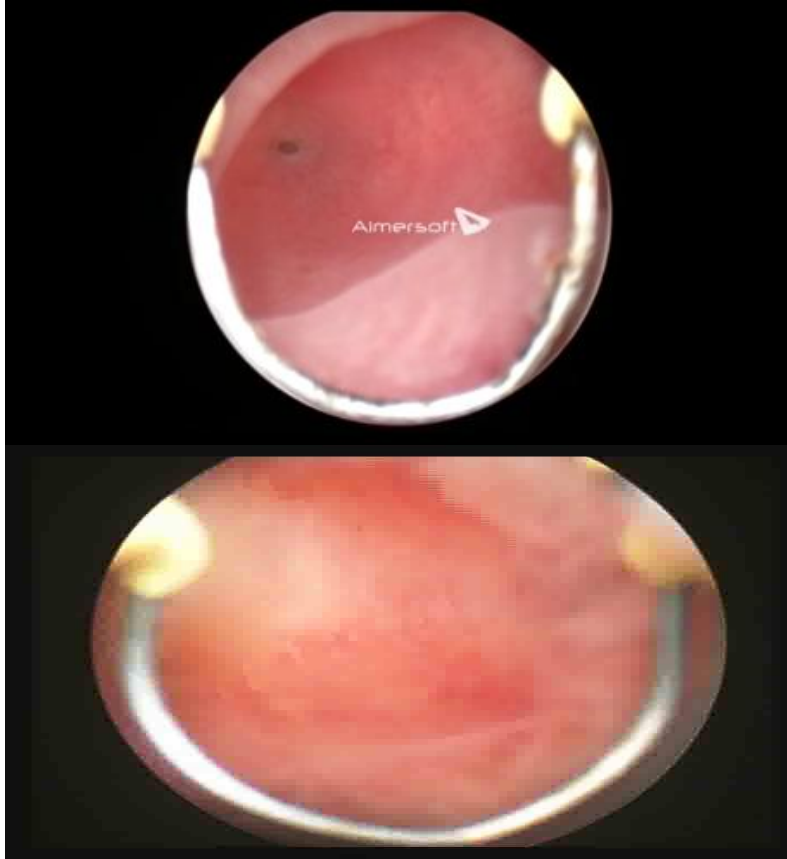
Örneklerin fotoğraflarından pinopod yoğunluğu, bu konuda yapılmış bir çalışmanın skorlama sistemi örnek alınarak değerlendirildi (89). (Skor 0= hiç pinopod yok, Skor 1= pinopod yerleşimi <%20 alan, Skor 2= pinopod yerleşimi %20-50 alan, Skor 3= pinopod yerleşimi >%50 alan). Örneklerin aynı fotoğraflarından pinopod morfolojisi de yine aynı çalışmada yapılan bir diğer skorlama sistemi kullanılarak değerlendirildi. (skor 0= hiç pinopod yok, Skor 1= büyüyen pinopod, Skor 2= tamamen büyümüş pinopod, Skor 3= büzülmüş pinopod.)



Şekil 5: Scanning elektron mikrografları (foto 1: pinopod gelişimi hiç olmayan bir endometriyum, foto 2: yeni gelişmekte olan pinopodlar alanın %20'sinden azında oluşmuş, foto 3: iyi gelişmiş pinopodlar alanın %20-50'sinde oluşmuş, foto 4: regrese olmuş pinopodlar alanın %50'sinden fazlasında oluşmuş) (tüm fotolarX3000)

Histeroskopi bulgularının değerlendirilmesi:

Histeroskopi bulguları, DVD kayıtlarından midsekretuar dönemde yapılmış bir histeroskopi yazısındaki değerlendirme referans alınarak puanlandı (90). Tüm endometriyum boyunca yuvarlak tip gland açılımları ve kalın vasküler oluşumlar iyi endometriyum olarak değerlendirilirken; nokta tip gland açılımları ve ince vasküler oluşumlar kötü endometriyum olarak değerlendirildi .



Şekil 6: Histeroskopi görüntüleri (foto1: nokta tip gland açılımları ve ince vasküler oluşumlar, kötü endometriyum; foto 2: yuvarlak tip gland açılımları ve kalın vasküler oluşumlar, iyi endometriyum)

Elde edilen değerlerin istatistiksel analizinde SPSS programı kullanıldı. Tanımlayıcı veriler için aritmetik ortalama, standart sapma ve yüzde dağılımları yapıldı. Karşılaştırmalı tablolarda parametrik yöntemler kullanıldı. Tüm verilerde anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

Bu tez çalışması için 19.12.2013 tarihli ve 60116787-020/52791 nolu etik kurul onayı alınmıştır.

BULGULAR

USG İLE DEĞERLENDİRİLEN ENDOMETRİYAL KALINLIK ÖLÇÜMÜ VE TİPLENDİRME BULGULARI

Çalışmaya alınan tüm vakaların ultrasonografik verileri değerlendirildiğinde 40 hasta ve 30 kontrol olmak üzere toplam 70 olgunun kayıtlarının tam olduğu görülmüştür. Hasta grubun yaş ortalaması $27,7 \pm 4,5$ ve kontrol grubun yaş ortalaması $28,68 \pm 4,65$ olarak hesaplanmıştır. Yaş grupları arasında farklılık olup olmadığı incelendiğinde, istatistiksel bir fark belirlenmemiştir ($p>0,05$). Hasta grubun VKİ'si $27,13 \pm 5,43 \text{ kg/m}^2$ ve kontrol grubun VKİ'si $24,92 \pm 0,051 \text{ kg/m}^2$ olarak hesaplanmış ve arada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 1: Hasta ve kontrol gruplarının periovulatuar dönem endometriyal kalınlıklarının dağılımları

	<7 mm	7-7,9 mm	8-8,9 mm	9-9,9 mm	10-10,9 mm	11-11,9 mm	12-12,9 mm	13-13,9 mm
Hasta sayı	20	4	6	6	3	0	0	1
%	%28,6	%5,7	%8,6	%8,6	%4,3			%1,4
Kontrol sayı	0	4	6	9	8	1	2	0
%		%5,7	%8,6	%12,9	%11,4	%1,4	%2,9	
Toplam sayı	20	8	12	15	11	1	2	1
%	%28,6	%11,4	%17,1	%21,4	%15,7	%1,4	%2,9	%1,4

Periovulatuar dönemde hastaların yarısının endometriyal kalınlıkları 7 mm'den azdır. Kontrol grubun endometriyal kalınlıklarının %76,6'sı 8-10,9 mm arasındadır. Hasta grubun en düşük endometriyal kalınlık değeri 3,8 mm iken; kontrol grubunki 7 mm olarak bulunmuştur. Hasta grubun en yüksek endometriyal kalınlık değeri 13,1 mm iken; kontrol grubunki 12 mm olduğu görülmüştür.

Tablo 2: Hasta ve kontrol gruplarının periovulatuar dönem endometriyal kalınlık skor dağılımları

Endometriyal kalınlık skorlaması	Hasta (n=40) sayı (%)	Kontrol (n=30) sayı (%)	P değeri
Skor 0	20 (%28,6)	0	0,000*
Skor 1	20 (%28,6)	30 (%42,9)	

Periovulatar dönemde hastaların %50'sinin endometriyal kalınlık skoru 1 olarak, kontrollerin %100'ünün endometriyal kalınlık skoru 1 olarak bulunmuştur ve bu durum istatistiksel olarak anlamlı değerlendirilmiştir (p=0,000)*. Kontrol grubunda endometriyal kalınlık skoru 0 olan vaka yokken, hasta grubunda endometriyal kalınlık skoru 0 olan 20 vaka vardır.

Tablo 3: Hasta ve kontrol gruplarının midluteal dönem endometriyal kalınlıklarının dağılımları

	< 10 mm	10-10,9 mm	11-11,9 mm	12-12,9 mm	13-13,9 mm	≥14 mm
Hasta sayı	30	1	2	4	1	2
%	%42,9	%1,4	%2,9	%5,7	%1,4	%2,9
Kontrol sayı	7	10	4	2	5	2
%	%10	%14,3	%5,7	%2,9	%7,1	%2,9
Toplam sayı	37	11	6	6	6	4
%	%52,9	%15,7	%8,6	%8,6	%8,6	%5,7

Midluteal dönemde hastaların %75'inin endometriyal kalınlıkları 10 mm'den azdır. Kontrol grubun endometriyal kalınlıklarının %46,6'sı 10-11,9 mm arasındadır. Hasta grubun en düşük endometriyal kalınlık değeri 4,3 mm iken; kontrol grubunki 8 mm olarak bulunmuştur. Hasta grubun en yüksek endometriyal kalınlık değeri 28,6 mm iken; kontrol grubunki 14,4 mm olduğu görülmüştür.

Tablo 4: Hasta ve kontrol gruplarının midluteal dönem endometriyal kalınlık skor dağılımları

Endometriyal	Hasta (n=40)	Kontrol (n=30)	P değeri
--------------	--------------	----------------	----------

kalınlık skorlaması	sayı (%)	sayı (%)	
Skor 0	30 (%42,9)	7 (%10)	
Skor 1	10 (%14,3)	23 (%32,9)	0,000*

Midluteal dönemde hastaların %25'inin endometriyal kalınlık skoru 1 olarak, kontrollerin %76,7'sinin endometriyal kalınlık skoru 1 olarak bulunmuştur ve bu durum istatistiksel olarak anlamlı değerlendirilmiştir (p=0,000)*. Kontrol grubunda endometriyal kalınlık skoru 0 olan 7 vaka varken, hasta grubunda endometriyal kalınlık skoru 0 olan 30 vaka vardır.

Tablo 5: Hasta ve kontrol grupların periovulatar ve midluteal dönemdeki endometriyal kalınlıklarının (mm) ortalama değerleri, standart sapmaları ve P değerleri

Parametreler	Hasta (n=40) ort. (ss.)	Kontrol (n=30) ort. (ss.)	P değeri
Periovulatar endometriyal kalınlık - mm	7,3 (2,1)	9,2 (1,3)	0,000*
Midluteal endometriyal kalınlık - mm	8,9 (4,2)	11 (1,6)	0,010**

Ovulasyon döneminde yapılan ultrasonografik incelemede endometriyal kalınlığın hasta gruptaki ortalaması $9,2 \pm 1,3$ mm ve kontrol gruptaki ortalaması $7,3 \pm 2,1$ mm olarak hesaplanmıştır ve aradaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0,000)*. Midluteal dönemde bakılan endometriyal kalınlığın hasta gruptaki ortalaması $11 \pm 1,6$ mm ve kontrol gruptaki ortalaması $8,9 \pm 4,2$ mm olarak hesaplanmıştır ve aradaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,010)**.

Tablo 6: Periovulatar ve midluteal dönemde endometriyum tiplerinin hasta ve kontrol gruplarına dağılımları

Parametreler	Hasta (n=40)	Kontrol (n=30)	P değeri
--------------	--------------	----------------	----------

	sayı (%)	sayı (%)	
Periovulasyon			
Endometriyum tip 0	18 (%69,2)	8 (%30,8)	0,116*
tip 1	22 (%50)	22 (%50)	
Midluteal			
endometriyum tip 0	30 (%54,5)	25 (%45,5)	0,400**
tip 1	10 (%66,7)	5 (%33,3)	

Ovulasyon döneminde yapılan ultrasonografik incelemede endometriyum tip 0 olan 18 hasta, 8 kontrol vakası; endometriyum tip 1 olan 22 hasta, 22 kontrol vakası bulunmuştur ve değerler arası farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$)*. Midluteal dönem değerlendirildiğinde endometriyum tip 0 olan 30 hasta, 25 kontrol vakası; endometriyum tip 1 olan 10 hasta, 5 kontrol vakası tespit edilmiştir ve değerler arası farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$)*.

Tablo 7: Hastaların abortus sayılarına göre yaşlarının, VKİ (kg/m^2) değerlerinin, perioovulatuvar ve midluteal dönemdeki endometriyal kalınlıklarının (mm) ortalama değerleri, standart sapmaları ve P değerleri

Parametreler	2 abortus ort. (ss.)	3 abortus ort. (ss.)	4 ve üzeri abortus ort. (ss.)	P değeri
Yaş	28,25 (4,81)	29,25 (5,19)	29,50 (1,29)	0,859*
VKİ (kg/m^2)	24,67 (3,58)	25,73 (4,44)	23,97 (4,19)	0,644*
Perioovulatuvar endometriyal kalınlık (mm)	6,9 (2,2)	8 (2)	7,5 (1,8)	0,585*
Midluteal endometriyal kalınlık (mm)	9,3 (4,8)	7,8 (3,1)	9,9 (2,2)	0,582*

Hastaların abortus sayıları ile yaş ve VKİ (kg/m²) değerleri, periovuluar dönem ve midluteal dönem endometriyal kalınlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p>0,05)*.

Tablo 8: Hastaların periovuluar ve midluteal dönemde endometriyum tiplerinin abortus sayılarına göre dağılımı

	2 abortus sayı (%)	3 abortus sayı (%)	4 ve üzeri abortus sayı (%)	P değeri
Periovulasyon endometriyum tip 0	17 (56,7)	11 (%36,7)	2 (%6,7)	0,189*
tip 1	7 (%70)	1 (%10)	2 (%20)	
Midluteal endometriyum tip 0	11 (%61,1)	6 (%33,3)	1 (%5,6)	0,679*
tip 1	13 (%59,1)	6 (%27,3)	3 (13,6)	

Hastaların abortus sayılarına göre periovulasyon ve midluteal dönemdeki endometriyum tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir (p>0,05)*.

İMMUNOHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRME BULGULARI

1) Annexin-1 ile boyanma bulguları

Hasta ve kontrol olmak üzere tüm olguların preparatları incelendiğinde 49 (%83) hastanın ve 10 (%17) kontrolün toplam 59 olgu spesmeninin değerlendirmeye yeterli olduğu görülmüştür. Bunlardan ANXA-1 ile boyanan hasta grubunun ortalama skor değeri $1,88 \pm 0,75$; kontrol grubunun ortalama skor değeri $1,90 \pm 0,87$ olarak hesaplanmış ancak aradaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0,05). Hastaların %22,4'ünün ve kontrollerin %30'unun ANXA-1 ile skor 3 olarak boyandığı görülmüştür. Başka bir deyişle, toplam skoru 3 olan 11 hasta, 3 kontrol; skoru 2 olan 21 hasta, 3 kontrol ve skoru 1 olan 17 hasta, 4 kontrol vakası bulunmuştur. Skor 2 ve 3 güçlü boyanma olarak kabul edilirse, hastaların

%65,3'ünün kontrollerin %60'ının ANXA-1 ile güçlü boyandığı belirlenmiştir. Skor 1 zayıf boyanma olarak kabul edilirse, hastaların %34,7'sinin kontrollerin de %40'ının ANXA-1 ile zayıf boyandığı görülmüştür.

Tablo 9: ANXA-1 ile boyanan hasta ve kontrol gruplarının ortalama değerleri, standart sapmaları ve P değerleri

Skorlar	Hasta (n:49) ort-ss.	Kontrol (n:10) ort-ss.	P değeri
Total ANXA-1 skor	1,88 (0,75)	1,90 (0,87)	0,966
Gland ANXA-1 skor	1,90 (0,58)	1,70 (0,48)	0,723
Surface ANXA-1 skor	1,61 (0,64)	1,30 (0,48)	0,156
Stroma ANXA-1 skor	1,29 (0,54)	1,20 (0,42)	0,339
Gland+surface ANXA-1 skor	1,97 (0,43)	1,90 (0,31)	0,588

Tablo 10: ANXA-1 ile boyanan vakaların ayrıntılı skorlanma dağılımları

	Skor 1 sayı (%)	Skor 2 sayı (%)	Skor 3 sayı (%)	Toplam
Total ANXA-1 hasta	17 (%28,8) (%34,7)*	21 (%35,6) (%42,9)*	11 (%18,6) (%22,4)*	49 (%100)*
kontrol	4 (%6,8) (%40)**	3 (%5,1) (%30)**	3 (%5,1) (%30)**	10 (%100)**
toplam	21 (%35,6)	24 (%40,7)	14 (%23,7)	59(%100)
Gland ANXA-1 hasta	11 (%18,6) (%22,4)*	32 (%54,2) (%65,3)*	6 (%10,2) (%12,2)*	49 (%100)*
kontrol	3 (%5,1) (%30)**	7 (%11,9) (%70)**	0	10 (%100)**
toplam	14 (%23,7)	39 (%61,1)	6 (%6,2)	59 (%100)
Surface ANXA-1 hasta	23 (%39) (%46,9)*	22 (%37,3) (%44,9)*	4 (%6,8) (%8,2)*	49 (%100)*
kontrol	7 (%11,9) (%70)**	3 (%5,1) (%30)**	0	10 (%100)**

toplam	30 (%50,8)	25 (%42,4)	4 (%6,8)	59 (%100)
Stroma ANXA-1 hasta	37 (%62,7) (%75,5)*	10 (%16,9) (%20,4)*	2 (%3,4) (%4,1)*	49 (%100)*
kontrol	8 (%13,6) (%80)**	2 (%3,4) (%20)**	0	10 (%100)**
toplam	45 (%76,3)	12 (%20,3)	2 (%3,4)	59 (%100)
Gland+stroma ANXA-1 hasta	5 (%8,5) (%10,2)*	40 (%67,8) (%81,6)*	4 (%4,8) (%8,2)*	49 (%100)*
kontrol	1 (%1,7) (%10)**	9 (%15,3) (%90)**	0	10 (%100)**
toplam	6 (%10,2)	49 (%83,1)	4 (%6,8)	59 (%100)

- *Hasta grubunun kendi içindeki yüzdeler değeri
- ** Kontrol grubunun kendi içindeki yüzdeler değeri

2) NP-1 ile boyanma bulguları

Hasta ve kontrol olmak üzere tüm olguların preparatları incelendiğinde 48 (%82,7) hastanın ve 10 (%17,3) kontrolün toplam 58 olgunun spesmeninin değerlendirmeye yeterli olduğu görülmüştür.

Tablo 11: NP-1 ile boyanan hasta ve kontrol gruplarının ortalama değeri, standart sapmaları ve P değeri

Skorlar	Hasta (n=48) ort-ss.	Kontrol (n=10) ort-ss.	P değeri
Total NP-1 skor	2,42 ± 0,53	1,3 ± 0,48	0,000*
Gland NP-1 skor	2,40 ± 0,57	1,3 ± 0,48	0,000*
Surface NP-1 skor	2,42 ± 0,57	1,3 ± 0,48	0,000*
Stroma NP-1 skor	2,35 ± 0,52	1,3 ± 0,48	0,000*

NP-1 ile boyanan hasta grubun ortalama skor değeri 2,42 ± 0,53; kontrol grubunki ise 1,3 ± 0,48 olarak hesaplanmış ve aradaki farklılık istatistiksel olarak

anlamli bulunmüstür (p=0,000) *. Hastaların %97,9'u ve kontrollerin %30'u NP-1 ile güçlü boyanmıştır. Başka bir deyişle, toplam skoru 3 olan 21 hasta, 0 kontrol; skoru 2 olan 26 hasta, 3 kontrol ve skoru 1 olan 1 hasta, 7 kontrol vakası bulunmüstür. Skor 2 ve 3 güçlü boyanma olarak kabul edilirse, toplam 47 hastanın NP-1 ile güçlü boyandığı belirlenmiştir. Skor 1 zayıf boyanma olarak kabul edilirse, 7 kontrol vakasının NP-1 ile zayıf boyandığı görölmüstür.

Tablo 12: NP-1 ile boyanan vakaların ayrıntılı skorlanma dağılımları

	Skor 1 sayı (%)	Skor 2 sayı (%)	Skor 3 sayı (%)	Toplam
Total NP-1 hasta	1 (%1,7) (%2,1)*	26 (%44,8) (%54,2)*	21 (%36,2) (%43,8)*	48 (%100)*
kontrol	7 (%12,1) (%70)**	3 (%5,2) (%30)**	0	10 (%100)**
toplam	8 (%13,8)	29 (%50)	21 (%36,2)	58 (%100)
Gland NP-1 hasta	2 (%3,4) (%4,2)*	25 (%43,1) (%52,1)*	21 (%36,2) (%43,8)*	48 (%100)*
kontrol	7 (%12,1) (%70)**	3 (%5,2) (%30)**	0	10 (%100)**
toplam	9 (%15,5)	28 (%48,3)	21 (%36,2)	58 (%100)
Surface NP-1 hasta	2 (%3,4) (%4,2)*	24 (%41,4) (%50)*	22 (%37,9) (%45,8)*	48 (%82,8) (%100)*
kontrol	7 (%12,1) (%70)**	3 (%5,2) (%30)**	0	10 (%17,2) (%100)**
toplam	9 (%15,5)	27 (%46,6)	22 (%37,9)	58 (%100)
Stroma NP-1 hasta	1 (%1,7) (%2,1)*	29 (%50) (%60,4)*	18 (%31) (%37,5)*	48 (%82,8) (%100)*
kontrol	7 (%12,1) (%70)**	3 (%5,2) (%30)**	0	10 (%17,2) (%100)**
toplam	8 (%13,8)	32 (%55,2)	18 (%31)	58 (%100)

•*Hasta grubunun kendi içindeki yüzdeler değeri

•** Kontrol grubunun kendi içindeki yüzdeler değeri

Preparatlar boyanma lokalizasyonlarına göre ayrıntılı olarak değerlendirildiğinde hasta grubundan 21'inin gland epitelindeki boyanma, 22'sinin yüzey epitelindeki boyanma, 18'inin stromasındaki boyanma 3 ile skorlanmıştır. Kontrol grubundaki boyanmaların ise hiçbiri 3 ile skorlanmamıştır. Yine hasta grubundan 25'ünün gland epitelindeki boyanma, 24'ünün yüzey epitelindeki boyanma ve 29'unun stromasındaki boyanma 2 ile skorlanmıştır. Fakat, kontrol grubundakilerin 3'ünün hem gland epiteli hem yüzey epiteli hem de stromasının boyanması 2 ile skorlanmıştır. Ek olarak, hasta grubundakilerin 2'sinin gland ve yüzey epitelinin boyanması 1 ile skorlanırken; sadece 1'inin stromasının boyanması 1 ile skorlanmıştır. Kontrol grubundan 7'sinin ise hem gland epitelinin hem yüzey epitelinin hem de stromasının boyanması 1 ile skorlanmıştır.

3) Osteopontin ile boyanma bulguları

Hasta ve kontrol olmak üzere tüm olguların preparatları incelendiğinde 37 (%78,7) hastanın ve 10 (%21,3) kontrolün toplam 48 olgu spesmeninin değerlendirmeye yeterli olduğu görülmüştür. Bunlardan OPN ile boyanan hasta grubunun ortalama skor değeri $1,76 \pm 0,83$; kontrol grubunun ortalama skor değeri $1,70 \pm 0,67$ olarak hesaplanmış ancak aradaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Hastaların %24,3'ü ve kontrollerin %10'u OPN ile skor 3 olarak boyandığı görülmüştür. Başka bir deyişle, toplam skoru 3 olan 9 hasta, 1 kontrol; skoru 2 olan 10 hasta, 5 kontrol ve skoru 1 olan 18 hasta, 4 kontrol vakası bulunmuştur. Skor 2 ve 3 güçlü boyanma olarak kabul edilirse, hastaların %51,3'ünün kontrollerin %60'ının OPN ile güçlü boyandığı belirlenmiştir. Skor 1 zayıf boyanma olarak kabul edilirse, hastaların %48,7'sinin kontrollerin de %40'ının OPN ile zayıf boyandığı görülmüştür.

Tablo 13: OPN ile boyanan hasta ve kontrol gruplarının ortalama değerleri, standart sapmaları ve P değerleri

Değerler	Hasta (n=37) ort-ss.	Kontrol (n=10) ort-ss.	P değeri
----------	-------------------------	---------------------------	----------

Total OPN skor	1,70 (0,67)	1,73 (0,83)	0,96
Gland OPN skor	1,84 (0,76)	2,20 (0,63)	0,16
Surface OPN skor	1,59 (0,72)	1,60 (0,69)	0,92
Stroma OPN skor	1,11 (0,39)	1,30 (0,67)	0,63
Gland+Surface OPN skor	1,89 (0,65)	2 (0,47)	0,56
Progesteron	10,54 (4,12)	6,80 (3,25)	0,01*

Hasta grubundaki progesteron ortalaması $10,54 \pm 4,12$ olarak hesaplanmış, kontrol grubundaki progesteron ortalaması $6,80 \pm 3,25$ olarak hesaplanmış ve aradaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,01$) *.

Tablo 14: Progesteron değerlerine göre hasta ve kontrol gruplarının sayı ve yüzdeler dağılımları

Progesteron değerleri	Hasta sayı (%)	Kontrol sayı (%)	Toplam sayı (%)
4-9	14 (%60,9)	9 (%39,1)	23 (%49)
10 ve üzeri	23 (%95,8)	1 (%4,2)	24 (%51)
Toplam	37 (%78,7)	10 (%21,3)	47 (%100)

Tablo 15: Hasta grubunun progesteron değerlerine göre karşılaştırılması

Skorlar	Progesteronu 4-9 olan hastalar (14) ort. ss.	Progesteronu 10 ve üzeri olan hastalar (23) ort. ss.	P değeri
Total OPN skor	1,43 (0,85)	1,96 (0,76)	0,049**
Gland OPN skor	1,71 (0,82)	1,91 (0,73)	0,448
Surface OPN skor	1,36 (0,63)	1,74 (0,75)	0,147
Stroma OPN skor	1,14 (0,36)	1,09 (0,41)	0,817
Gland+Surface OPN skor	1,71 (0,72)	2,0 (0,60)	0,244

Progesteron değeri 10 ve üzeri olan hasta grubundaki OPN boyanma skoru ortalama $1,96 \pm 0,76$ olarak hesaplanıp; progesteron değeri 4-9 olan hasta grubundaki ortalama $1,43 \pm 0,85$ olarak hesaplanmıştır ve aradaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,049$)**. Diğer değişkenler arasında ise anlamlı farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 16: OPN ile boyanan vakaların ayrıntılı skorlanma dağılımları

	Skor 1 sayı (%)	Skor 2 sayı (%)	Skor 3 sayı (%)	Toplam
Total OPN hasta	18 (%38,3) (%48,6)*	10 (%21,3) (%27)*	9 (%19,1) (%24,3)*	37 (%100)*
kontrol	4 (%8,5) (%40)**	5 (%10,6) (%50)**	1 (%2,1) (%10)**	10 (%100)**
toplam	22 (%46,8)	15 (%31,9)	10 (%21,3)	47 (%100)
Gland OPN hasta	14 (%29,8) (%37,8)*	15 (%31,9) (%40,5)*	8 (%17) (%21,6)*	37 (%100)*
kontrol	1 (%2,1) (%10)**	6 (%12,8) (%60)**	3 (%6,4) (%30)**	10 (%100)**
toplam	15 (%31,9)	21 (%44,7)	11 (%23,4)	47 (%100)
Surface OPN hasta	20 (%42,6) (%54,1)*	12 (%25,5) (%32,4)*	5 (%10,6) (%13,5)*	37 (%100)*
kontrol	5 (%10,6) (%50)**	4 (%8,5) (%40)**	1 (%2,1) (%10)**	10 (%100)**
toplam	25 (%53,2)	16 (%34)	6 (%12,8)	47 (%100)
Stroma OPN hasta	31 (%66) (%83,8)*	5 (%10,6) (%13,5)*	0	37 (%100)*
kontrol	8 (%17) (%80)**	1 (%2,1) (%10)**	1 (%2,1) (%10)**	10 (%100)**
toplam	39 (%83)	6 (%12,8)	1 (%2,1)	47 (%100)
Gland + Surface OPN hasta	10 (%21,3) (%27)*	21 (%44,7) (%56,8)*	6 (%12,8) (%16,2)*	37 (%100)*
kontrol	1 (%2,1)	8 (%17)	1 (%2,1)	10

	(%10)**	(%80)**	(%10)**	(%100)**
toplam	11 (%23,4)	29 (%61,7)	7 (%14,9)	47 (%100)

- *Hasta grubunun kendi içindeki yüzdelik değerleri
- ** Kontrol grubunun kendi içindeki yüzdelik değerleri

SCANNING ELEKTRON MİKROSKOBİ BULGULARI

Tüm spesmenler incelendiğinde 45 hasta ve 11 kontrol olmak üzere toplam 56 vakanın pinopod yoğunluklarının ve morfolojilerinin değerlendirmeye yeterli olduğu belirlenmiştir.

Tablo 17: Hasta ve kontrol gruplarının pinopod yoğunlukları

Pinopod yoğunluğu (fotoğraf alanı)	Hasta (n=45) sayı (%)	Kontrol (n=11) sayı (%)	P değeri
0	13 (%28,9)	0	0,010*
<%20	11 (%24,4)	0	
%20-50	9 (%20)	3 (%27,3)	
>%50	12 (%26,7)	8 (%72,7)	

Hasta ve kontrol grubu spesmenlerinde pinopod yoğunlukları incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($p=0,010$)*. Hangi grubun anlamlı olduğunu bulmak için yapılan ileri analizde, pinopod yoğunluklarının hasta ve kontrol grupları ile karşılaştırıldığında pinopod yoğunluğunun %20'den az görüldüğü grup ile pinopod yoğunluğunun %50'den fazla görüldüğü grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=0,015$). Aynı şekilde, pinopodun hiç görülmediği grup ile pinopod yoğunluğunun %50'den fazla görüldüğü grup arasında da istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=0,009$). Diğer pinopod yoğunlukları bakımından ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık belirlenmemiştir ($p>0,05$). Hasta grubun yarısından fazlasının pinopod yoğunluğunun %20'den az olduğu, kontrol grubun tamamının pinopod yoğunluğunun %20'den fazla olduğu bulunmuştur.

Tablo 18: Hasta ve kontrol gruplarının pinopod morfolojileri

Pinopod morfolojisi	Hasta (n=45) sayı (%)	Kontrol (n=11) sayı (%)	P değeri
Hiç gelişmemiş	13 (%28,9)	0	0,033*
Yeni gelişen	16 (%35,6)	2 (%18,2)	
İyi gelişmiş	7 (%15,6)	5 (%45,5)	
Regrese olmuş	9 (%20)	4 (%36,4)	

Hasta ve kontrol grubu spesmenlerinde pinopod morfolojileri incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($p=0,033$)*. Hangi grubun anlamlı olduğunu bulmak için yapılan ileri analizde, pinopod morfolojilerinin hasta ve kontrol grupları ile karşılaştırıldığında hiç pinopod gelişimi olmayan grup ile pinopod gelişimi iyi olan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=0,009$). Aynı şekilde, hiç pinopod gelişimi olmayan grup ile pinopod gelişimi regrese olmuş grup arasında da istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=0,030$). Diğer pinopod morfolojileri bakımından ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık belirlenmemiştir ($p>0,05$). Hasta grubun yaklaşık üçte birinde pinopod gelişiminin hiç olmadığı, kontrol grubun tamamının pinopod gelişimi gösterdiği ve bunların çoğunun iyi gelişmiş özellikte olduğu bulunmuştur.

SERUM VİTAMİN D ÖLÇÜM BULGULARI:

Çalışmaya alınan 40 hasta ve 30 kontrol olmak üzere toplam 70 olgunun Vitamin D sonuçları değerlendirilmiştir.

Tablo 19: Hasta ve kontrol grubun 25-OH-Vitamin D değerleri

	25-OH-Vitamin D değerleri			P değeri
	0-9 ng/ml (şiddetli eksiklik) sayı (%)	10-19 ng/ml (eksiklik) sayı (%)	≥ 20 ng/ml (normal) sayı (%)	

Hasta (n=40)	17 (%45,9)	14 (%37,8)	6 (%16,2)	0,000*
Kontrol (n=30)	1 (%33)	17 (%56,7)	12 (%40)	

Çalışmaya katılan hasta ve kontrol grubundaki kadınların 25-OH-Vitamin D değerleri kıyaslandığında gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmuştur (p=0,000)*. Anlam yaratan grubu bulmak için yapılan ileri analizde 25-OH-Vitamin D değeri 9 ng/ml ve altında olan grup ile 25-OH-Vitamin D değeri 10-19 ng/ml olan grup ve 25-OH-Vitamin D değeri 20 ng/ml ve üzerinde olan gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir (p=0,000).

Tablo 20: Hasta grubundaki farklı seviyelerdeki 25-OH-Vitamin D gruplarında yaş, VKİ, periovulatar dönem endometriyal kalınlık ve midsekretuar endometriyal kalınlık ölçümleri

	25-OH-Vitamin D değerleri			
	0-9 ng/ml (şiddetli eksiklik)	10-19 ng/ml (eksiklik)	≥20 ng/ml (normal)	P değeri
Yaş ortalama (s.s.)	26,95 (4,53)	29,57 (4,43)	32,33 (3,07)	0,324
VKİ ortalama (s.s.)	24,78 (3,58)	24,99 (4,48)	25,25 (3,80)	0,960
Periovulatar endometriyal kalınlık ortalama (s.s.)	0,76 (0,21)	0,72 (0,21)	0,66 (0,21)	0,583
Midsekretuar endometriyal kalınlık ortalama (s.s.)	0,96 (0,53)	0,81 (0,29)	0,83 (0,12)	0,712

Farklı seviyedeki 25-OH-Vitamin D hasta gruplarının yaş, VKİ, periovulatar dönem endometriyal kalınlık ve midsekretuar endometriyal kalınlık ölçümleri açısından aralarında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).

HİSTEROSKOPI BULGULARI:

Tüm histeroskopi kayıtları incelendiğinde 30 hasta ve 5 kontrol toplam 35 olgunun görüntülerinin değerlendirmeye yeterli olduğu görülmüştür.

Tablo 21: Hasta ve kontrol gruplarının histeroskopi gözlemlerindeki endometriyal glad ve damar yapıları

Histeroskopi gözlemleri	Hasta (n=30) sayı (%)	Kontrol (n=5) sayı (%)	P değeri
Gland yapıları:			
Yuvarlak açılımlı	16 (%53,3)	5 (%100)	0,027*
Nokta açılımlı	14 (%46,7)	0	
Vasküler yapılar:			
İnce ağ karakterli	20 (%66,7)	0	0,005**
Kalın ağ karakterli	10 (33,3)	5 (%100)	

Endometriyum gland yapıları incelendiğinde hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($p=0,027$)*. Hasta grubun yaklaşık yarısının endometriyal glandlarının yuvarlak açılımlı olduğu, diğer yarısının ise nokta açılımlı olduğu gözlenmiştir. Kontrol grubun tamamının gland yapıları yuvarlak açılımlı olarak tespit edilmiştir.

Endometriyum vasküler yapıları incelendiğinde hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($p=0,005$)*. Hasta grubun yaklaşık üçte ikisinin endometriyal vasküler yapılarının ince karakterli

olduğu, üçte birinin ise kalın karakterli olduğu gözlenmiştir. Kontrol grubun tamamının vasküler yapıları kalın karakterli olarak tespit edilmiştir.

TARTIŞMA

Bazı araştırmacılar, ultrasonla endometriyal gelişimin tespitinin embriyo implantasyonu ile korele olduğunu belirtirlerken (91,92), bazıları da endometriyal kalınlık veya paterninin embriyo implantasyonunu belirlemede hiç önemli olmadığını savunmuşlardır (93,94). Ultrason endometriyum ve subendometriyal alanı non-invaziv yöntemle tarayan bir tekniktir. Ultrasonla endometriyal kalınlık, morfoloji ve volüm; myometriyal kontraksiyon ve uterin kanlanma bakılabilir (95).

Bu objektif çalışmada amacımız periovulatar ve midluteal dönemlerdeki endometriyum kalınlık ölçümü ve endometriyum tiplendirmesinden oluşan ultrasonografik endometriyal skorlama sistemini kullanarak IRPL hasta ve kontrol gruplarındaki endometriyal reseptiviteyi noninvaziv olarak ölçen ultrasonun prognostik değerini ortaya koymaktı. Endometriyal reseptivite üzerine yapılan ultrason çalışmaları şimdiye kadar infertilite araştırmalarında gebelik prognozuna yönelik kullanılmıştır. IRPL üzerine yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca IVF sikluslarında preovulatar endometriyum kalınlık ölçümü ve endometriyum tiplendirilmesine kullanılarak midsekretuar reseptif endometriyumun prediksyonuna gidilmiş ancak sekretuar dönemdeki endometrial kalınlık ve endometriyum tiplendirmesinin standardizasyonu yapılmamıştır.

Literatüre baktığımızda reseptif endometriyum öngörü çalışmalarının çoğunda periovulatar endometriyal kalınlık ölçümü kullanılmıştır. Reseptif endometriyum oluşturacak doğru periovulatar endometriyal kalınlık değeri yapılan araştırmalarda farklılıklar göstermektedir. Endometriyal kalınlık 4,0 mm'den az olsa da gebeliğin gerçekleşebileceği araştırmalarda gösterilmiştir (96). Bir alışma uygun endometriyal kalınlığın en az 10 mm olması gerektiğini bulmuştur (97). 25 çalışmanın bulunduğu bir revizyon araştırmasında sadece 8 çalışmanın endometriyal kalınlıkları ile gebelik oranları arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (98). Çoğu çalışmada 8,6 – 11,8 mm kalınlığındaki periovulatar endometriyumların midsekretuar dönemdeki reseptif endometriyuma dönüştükleri gösterilmiştir (99). Periovulatar endometriyum olağan şekilde 5 mm ile 8 mm arasındadır ve 6 mm ve altındaki ölçümlerde gebelik oluşumu pek muhtemel değildir (100,101,102). Son

yapılan bir araştırma endometriyal kalınlık ve gebelik oranlarının birbiriyle son derece ilişkili olduğunu ve ince endometriyum (<6 mm) görüldüğünde embriyo transferini iptal etmemek gerektiğini çünkü gebelik oranlarının bu incelikte bile %50'den fazla olabileceğini göstermiştir (103). Diğer bir çalışma 7 mm altındaki endometriyumların yeterli reseptiviteye ulaşamayıp gebelik oluşturmadıklarını gösterse de (93) başka bir çalışmada 4 mm kadar olan bir endometriyumda gebelik olduğu rapor edilmiştir (104). Bir diğer çalışmada IVF siklusunda transfer edilen embriyo kalitesine bağlı olmaksızın endometriyal kalınlık arttıkça gebelik oluşma şansının arttığı gösterilmiştir (102). Bu değerlendirme daha sonra yapılan 2464 sikluslu kohort çalışma ile desteklenmiştir (105). Abortuslar üzerine yoğunlaşan bir çalışmada 14 mm'yi aşan endometriyal kalınlıklarda düşük ihtimalinin artacağı savunulmuştur (106). Başka bir çalışmada ise 6-17 mm arası endometriyal kalınlıklarda düşük olma olasılığı ile ilişki bulunmamıştır (107).

Bu çalışmada hasta grubundaki en düşük endometriyal kalınlık ölçümünün 3,8 mm olduğu, hastaların yarısının endometriyal kalınlık ölçümünün 7 mm'nin altındaydı. Oysa ki; kontrol grubundaki endometriyal kalınlık ölçümlerinin hepsi 7 mm ve üzerindedir. Periovulatuvar dönemdeki endometriyal kalınlığın eşik değerini 7 mm olarak kabul edersek, hasta gruptaki ince endometriyumların midsekretuar dönemde reseptif endometriyumlara dönüşemedikleri ve böylece embriyoların implantasyon anomalisi nedeniyle bir müddet sonra abort olacakları sonucunu çıkarabiliriz. Kontrol grubunda ise endometriyal kalınlıkların hepsi 7 mm'den fazla olduğu için bu grupta abortusla karşılaşılması olağandır.

Endometriyal kalınlık ölçümünün pratik hali olan endometriyal kalınlık skorlamasını kullanan bir çalışmada yaşla endometriyal skorlamanın korele olduğu bulunmuş, yaş arttıkça endometriyal skorlamanın da artmış olduğu görülmüştür (108). Bu durum örnekleme uygun seçilmemiş hasta popülasyonu ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Çünkü endometriyal proliferasyon overlerden salgılanan östrojen üretimi ile gerçekleşmektedir. Yaş direkt olarak ovaryan rezervi yani östrojen üretimini etkileyeceği için daha kapsamlı çalışmalarda yaşla endometriyal skorlamanın ters ilişkili olması beklenmelidir. Biz ise çalışmamızda hasta ve kontrol grupları arasında yaş açısından anlamlı bir farklılık olmadığını bulduk. Bu sayede her

iki grup arasında tüm parametreleri karşılaştırırken yaşa göre değişkenlik durumu söz konusu olmamıştır. Yine aynı çalışmada periovulatar dönem endometriyal skorlama ile gebelik oranları arasında ilişki bulunmamıştır (108). Bizim çalışmamızda kontrol grubundan kimsenin endometriyumu 0'la skorlanmamıştı ve hasta grubun yarısının endometriyum skoru 0'dı. Bu değerler istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Bu sonuçlar doğrultusunda, periovulatar dönemin ultrasonografik değerlendirmesinde (endometrial kalınlık eşik değeri 7 mm olarak alınıp kalınlığı 7 mm altındaki endometriyumlara skor 0 verilir ve kalınlığı 7 mm ve üzeri olanlara skor 1 verilirse) önerdiğimiz skorlama sistemi IRPL araştırmalarında etyolojiye yönelik basit ancak prognostik değeri olan bir yöntem olarak kullanıma sunulabilir.

Reseptif endometriyum öngörü çalışmaları son günlerde periovulatar dönem endometriyum paterni başka bir deyişle endometriyum tiplendirmesi üzerine yoğunlaşmıştır. Yardımcı üreme teknikleri uygulanan sikluslarda hCG uygulanan günde tespit edilen trilaminer endometriyumun hiperekojen endometriyumdan daha reseptif olduğu ve gebelik şansının yüksek olduğu belirtilmiştir (109). Trilaminer endometriyal patern sıklıkla başarılı gebelikle ilişkiliken hiperekojenik endometriyal patern daha çok anovulatar sikluslarla ilişkilidir (110,111). Artmış progesteron indüksiyonu ile oluşan prematür luteinizasyon, faz dışı endometriyuma neden olarak yardımcı üremede hedef olan başarılı gebelik şansını düşürür. Yine de, trilaminer endometriyum varlığı başarılı bir gebeliğin oluşacağını garanti etmez (112). Bir IVF çalışmasında trilaminer endometriyumla trilaminer olmayan endometriyumun aynı olasılıkla sağlıklı gebelik taşıdığını öne sürmüşlerdir (107). Yine birçok çalışmada endometriyal ekojenite paterninin gebelik için prognostik değerinin olmadığı belirtilmiştir (113,114). Abortus olasılığı trilaminer olmayan endometriyumlarda trilaminer olanlara kıyasla daha yüksek bulunmuştur (115). Patern ölçümleri subjektif yöntemlere dayandığı için sonuçlar konusunda karşıt görüşler vardır (101,116). Bilgisayar programı ile ekojeniteyi klasifiye eden metodolojiyi kullanan bir çalışma ekojenite ile gebeliğin ilişkili olduğunu, ekojenite arttıkça implantasyon oranlarında progresif düşme olduğunu göstermiştir (94). Çoğu endometriyal ölçüm menstruasyonun uygun zamanında yapılmamaktadır. Aslında endometriyal reseptiviteyi gösteren implantasyon penceresi sırasında en değerli ve en uygun ölçüm yapılır. Çalışmamızda hasta ve kontrol grubu endometriyumlarının

çoğunun trilaminer karakterde olduğunu gördük. Her ne kadar kontrol grubu endometriyumlarının hasta grubu endometriyumlarına göre daha fazla trilaminer karakter göstermiş olsa da, aradaki fark istatistiksel olarak bir farklılık ortaya koymamıştır. Çoğu infertil hastada perioovuluar endometriyumun trilaminer karakterde olmayışı bozuk reseptiviteye işaret etmektedir. Ancak bizim çalışmamızda IRPL hastaları üzerine perioovuluar endometriyal paternin prognostik bir değeri olmamıştır.

Perioovuluar dönemde yaptığımız sonografik çalışma ile 7 mm'den ince endometriyumu yani skor 0 endometriyumu IRPL hastalarının prediksyonu için kullanabilir. Ancak perioovuluar endometriyal tiplendirme IRPL'yi öngörmede başarılı bir yöntem olarak belirlenmemiştir.

Sekretuar dönemde yapılan reseptif endometriyum çalışmaları daha çok histolojik günlemenin, endometriyal seks steroid reseptör konsantrasyonunu ölçmek için kullanılan immunohistokimyasal yöntemlerin, pinopod ekspresyonunu gösteren scanning elektron mikroskopisinin ve sitokinlerin, büyüme faktörlerinin, integrin moleküllerinin üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu metodlar hiç pratik yöntemler değildir (117-121,). Bir noninvaziv yöntem olan ultrasonografik endometriyal kalınlık ve ekojenik patern tayini o siklus içerisinde embriyo transferi için yeterli endometriyal reseptiviteyi tayin edebilir. Genellikle kabul edilen görüş transvajinal ultrasonla görülen ince endometriyal çizginin embriyo implantasyon başarısızlığı ile ilişkisidir (113,122,123). Bazı çalışmalar da artan endometriyal kalınlıkla endometriyal reseptivitenin arttığını ve buna bağlı olarak implantasyon başarısı üzerinden sağlıklı gebelik oluşumu ihtimalinin arttığını göstermiştir (124). Bir IVF çalışmasında gebe kalan ve kalmayanların retrospektif olarak luteal faz endometriyal kalınlıkları ve paternleri incelendiğinde arada önemli bir fark bulunmadığı gösterilmiştir. Bu çalışmada luteal faz endometriyal kalınlık ölçüm ortalaması 10,5 mm olarak bulunmuştur. Bu vakaların kaçınının abortusla sonlandığı belirtilmemiştir (125). Luteal faz endometriyal kalınlık ve paterni parametrelerini kullanan bir infertilite çalışmasında endometriyal kalınlık ortalaması 10,4 mm olan ve homojen hiperekojen paternli endometriyuma sahip kadınların endometriyal kalınlık ortalaması 10,5 mm olan ve nonhomojen hiperekojen paternli endometriyuma sahip kadınlara göre daha yüksek oranda gebe kaldıkları gösterilmiştir. Burada endometriyal kalınlık ölçüm

değerleri birbirine çok yakın olduğu için gebeliği predikte etme gücü açık değildir (126). Çalışmamızda hasta grubun midluteal dönem endometriyal kalınlık ortalaması 8,9 mm ve kontrol grubun endometriyal kalınlık ortalaması 11 mm ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Midluteal dönem ince endometriyumlar yeterince reseptif endometriyum olmadıkları için implantasyon anomalisi nedeniyle abortusa sebep olabilirler. Çoğu IVF merkezinde, hastalarda yeterli luteal dönem endometriyal kalınlığa ulaşmak için progesteron takviyesi kullanılmaktadır. Daha sonra yapılacak çalışmalarda progesteron takviyesi ile hastalarda reseptif endometriyum oluşturularak onların sağlıklı gebelik şanslarını ölçebilir.

Endometriyal kalınlık ölçümünün pratik hali olan endometriyal kalınlık skorlamasını midluteal dönemde kullanan bir çalışmaya yaptığımız literatür taramasında rastlanmamıştır. Son verilere göre uygun luteal faz endometriyal kalınlığın 10 mm ile 14 mm arasında olduğu belirtilmektedir (99). Bizim çalışmamızda da midluteal dönem endometriyal kalınlığın eşik değerini 10 mm olarak alınmıştır. Yapılan analizlerde hastaların %75'inin endometriyal kalınlıklarının 10 mm'den daha az (skor 0 olduğu), kontrollerin ise %76,7'sinin endometriyal kalınlıklarının 10 mm ve daha fazla ölçüldüğü (skor 1 olduğu) belirlenmiştir. Elde edilen bulgular eşliğinde midluteal dönem endometriyal kalınlığı 10 mm'den az olan vakaların abortusla sonuçlanabileceği düşüncesindeyiz. Eşik değeri 10 mm olan bu skorlama sistemi IRPL araştırmasında etyolojiye yönelik basit ancak prognostik değeri olan bir yöntem olarak kullanıma sunulabilir.

Midluteal dönem reseptif endometriyum paterninin değerlendirilmesinde ultrasonografik homojen hiperekojenite aranmaktadır. Bu dönemde endometriyumun homojen hiperekojenitede olmayışı düşük fekdite ile ilişkili bulunmuştur (127). Grunfeld ve arkadaşlarının çalışmasında, midluteal dönemde yapılan endometriyum ultrasonunun sonucunda; histolojik olarak normal bir endometriyal gelişimi %100 sensitivitede ve %62 spesifitede tespit edilebildiğini göstermişlerdir. Endometriyal histolojisi gland ve stromada senkroni göstermeyen kadınlarda sonografik eko paterni incelenmiş, bu patern stromal günleme ile ilişkili iken glandüler günleme ile ilişkili olmadığı belirlenmiştir. Buradan ekojenite artışın stromal ödemin derecesine bağlı olduğu sonucu çıkarılmıştır (128). Şüpheli luteal faz defekti olan 12 kadın

üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise bütün sonograflerin midluteal fazda anormal eko paterninde olduğu görülmüştür (129). Bazı çalışmalar sonuçları incelendiğinde ise endometriyal histoloji tahminin endometriyal kalınlık veya Doppler ölçümü ile yapılamayacağını göstermiştir (130,131). Bir infertilite araştırmasında midluteal dönemde yapılan ultrasonografide endometriumu homojen hiperekojen karakterde olanlarda oluşan gebelik yüzdesi, endometriyum nonhomojen hiperekojen karakterde olanlarda oluşan gebelik yüzdesinden daha fazla bulunmuştur (127). Luteal faz endometriyal paternini kullanan bir IVF çalışmasında ise homojen ve nonhomojen hiperekojen endometriyuma sahip kadınların gebelik şansı bakımından farklılık göstermedikleri bulunmuştur (125). Bizim çalışmamızda hasta ve kontrol gruplarında midluteal dönem endometriyum paterni olarak homojen hiperekojenik görülenlerle nonhomojen hiperekojenik görülenler arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu nedenle midluteal dönem endometriyum tiplendirmesi IRPL prediksyonu için bir yöntem olarak sunulmasını önermemekteyiz.

Midluteal dönemde yaptığımız sonografik çalışma ile 10 mm'den ince endometriyum ölçümünün (skor 0) IRPL hastalarının prediksyonu için referans olarak kullanabileceğini, midluteal endometriyal tiplendirmenin ise IRPL'yi öngörmede başarılı bir yöntem olamayacağı sonucuna varılmıştır.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda sağlıklı gebelik oluşumu için yeterli ve güvenli bir endometriyal yatak oluşumu dediğimiz reseptif endometriyumun gerekliliği vurgulanmıştır. Eskiden, bu tanıma sadece endometriyal biyopsi örneğinin histopatolojik incelenmesi ile günleme yapılarak ulaşılabilirdi. Ancak günümüzde teknoloji ve bilimin ilerlemesi ile reseptif endometriyum oluşturucu veya oluşumunu engelleyen protein salınımları da incelenir oldu (132). Tez çalışmamızda amacımız IRPL hastalarında etyolojiye yönelik endometrial reseptivitenin immunohistokimyasal yöntemlerle inceleyerek ANXA-1, NP-1, OPN proteinlerinin kontrol grubundakilere kıyasla salınımları açısından fark olup olmadığını araştırmaktı.

ANXA-1: Annexin süperfamilyasına ait olan ANXA-1 inflamatuvar yolak, hücre proliferasyonu, hücre ölümü, apoptotik hücrelerin fagositozu, en önemlisi de karsinogenez gibi hücresel olayları yöneten multifonksiyonel bir proteindir (133).

Son zamanlarda infertilite etyolojisine yönelik yapılan birkaç gen çalışmasında bir annexin olan ANXA-5'in trofoblast yüzeyinde bulunan bir protein olduğu ve plesanta oluşumunda immünmodülatör ve antikoagülan fonksiyonu görerek sağlıklı bir gebeliğin oluşmasında gerekli olduğundan bahsedilmiştir. ANXA-5 fazla ekspresyonunun RPL, IUGR, preeklamsi ile ilişkili olabileceği vurgulanmıştır (134). Bir çalışma da; annexin A5 otoantikorunun antifosfolipid sendromuna yol açarak aşırı trombotik olaylara ve kötü gebelik sonuçlarına yol açabileceği gösterilmiştir (135). Diğer bir çalışmada IRPL'ye yol açabilecek hemostatik genler incelenirken ANXA-5 genine de bakılmış ancak hasta ve kontrol gruplarında ekspresyon açısından fark bulunmamıştır (136). İmmünohistokimyasal metodla yapılan bir çalışmada düşükle sonuçlanmış fare plesantalarında ANXA-5 kaybı gözlenmiş, maternal ANXA-5'in antitrombotik ajan olduğu ve düşüğe sebep olduğu öne sürülmüştür (137). ANXA-1'in gerek epitelde gerek inflamatuvar hücrelerde her ne kadar inflamatuvar süreçte görev aldığı bilinse de endometriyal dokuda çalışılmış herhangi araştırması yoktur (138). Bu yüzden IRPL etyolojisine yönelik prognostik değeri bilinmemektedir. Biz de bu çalışmada tekrarlayan gebelik kaybı yaşanan endometriyumda sağlıklı endometriuma göre embriyoya karşı aşırı bir inflamatuvar olay yaşandığını düşünerek IRPL hastası endometriyumun kontrol endometruma göre daha fazla ANXA-1 oluşturur hipotezini kurduk. Yaptığımız immunohistokimyasal çalışmanın sonucunda hasta ve kontrol endometriyumlarındaki ANXA-1 protein oluşumlarının istatistiksel olarak farklı olmadığını görülmüştür. Çalışma için az sayıda kontrol toplanmış olması, sonucun anlamlı çıkmamasına yol açmış olabilir çünkü hasta grupta ANXA-1 ile güçlü boyanma kontrol gruba göre daha yüksek yine ANXA-1 ile zayıf boyanma kontrol grupta hasta gruba göre daha yüksek bulunmuştur. Bu durum inflamatuvar yolakta görev alan ANXA-1'in inflamasyonu düzensiz olan IRPL hastası grubun endometriyumunda fazla bulunduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak yapılacak daha kapsamlı çalışmalarla istatistiksel olarak anlamlı sonuçlara ulaşılabilir. Belki de gelecekte, endometriyumlarında ANXA-1 anti-inflamatuvar proteini fazla tespit edilmiş IRPL hastaları keşfedilecek olan antiinflamatuvar ilaçlarla tedavi edilebilirler.

NP-1: Pentraxin süperfamilyasına ait olan NP-1 doğal immünite, inflamasyon, matrix depozisyonu, kadın infertilitesi ve tümör gelişimi gibi pek çok faktör üzerine etkisi olan bir proteindir (139). İnfertilite etyolojisi araştırılırken gebelik oluşumu için gerekli olan implantasyonda, desidualizasyonda ve plesantasyonda önemli rolü olduğu bulunmuştur (140). Bir çalışmada fertilizasyon bozukluğu olan farelerde pentraksin kaybı bulunmuştur (141). İnsan reseptif endometriumunda, trofoblastta ve desiduada pentraxin gen ekspresyonu olduğu bulunmuştur (142). IRPL etyolojisine yönelik NP-1 ile çalışılmış bir araştırma bulunmadığı için NP-1'in bu konudaki prognostik değeri bilinmemektedir. Çalışmamızda tekrarlayan gebelik kaybı yaşanan endometriyumda sağlıklı endometriuma göre embriyoya karşı lokal olarak aşırı bir inflamatuvar olay yaşandığını düşünerek IRPL hastası endometriyumun kontrol endometruma göre daha fazla NP-1 proteini oluşturur hipotezini kurulmuştur. Yapılan immunohistokimyasal çalışmamızın sonucunda hasta grubundaki endometriyumlarında NP-1 protein oluşumlarının kontrol grubundaki endometriyumlara kıyasla daha fazla olduğu görülmüştür ve aradaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değerlendirilmiştir. NP-1 ile boyanmanın lokalizasyonuna göre spesmenler ayrıntılı incelendiğinde hasta grubundaki endometrial dokuların, gland epitel hücrelerinin, yüzey epitel hücrelerinin ve stromal hücrelerin her üçü de NP-1'le güçlü boyanmıştır. Buradan inflamatuvar cevabın dokunun her alanında oluştuğu sonucu çıkarılabilir. Ve yine, kontrol grubundaki dokunun tüm alanlarının NP-1 ile zayıf veya hiç boyanmamış olması da buradaki inflamatuvar cevabın yok denecek kadar az olduğunu düşündürmüştür.

Sonuç olarak IRPL hastalarında anormal doğal bağışıklık cevabı ve artmış lokal inflamatuvar reaksiyona bağlı olarak NP-1'in salınımının immunohistokimyasal yöntemle artmış olduğu tespit edildiği için IRPL tanısını koymada yararlı bir belirteç olarak kullanılabilir. Bu hastalar ileride bu konuda yapılacak çalışmalarla keşfedilecek immün reseptör antagonistleri veya gen terapisi ile tedaviye aday olabilirler.

OPN: Bir glikoprotein olan osteopontin ilk olarak osteoblastta keşfedilse de zamanla hücre adezyonu, migrasyonu, diferansiasyonu ve tümör hücrelerinin metastatik dağılımlarının regülasyonu gibi vücutta birçok fonksiyonu olduğu öğrenilmiştir (143). Bir gen çalışmasında OPN'nin invajinasyon, proliferasyon ve

endometrial hücrelerin yaşamını devam ettirmesinde görevli olduğu bilgisi ile endometriozisteki ektopik endometriyal odaklarda OPN geninin fazla eksprese olduğu gösterilmiştir (144). Ayrıca endometriyal reseptivite çalışmalarında endometriyal exraselüler matriks proteinlerinden olan OPN'nin diğer proteinlere göre implantasyonda fazlaca regüle olduğu üzerinde durulmuştur (145). İmplantasyon anomalisine yol açabilecek uterin fibroidleri inceleyen bir çalışmada fibroidi olan grupta olmayan grup arasında mid-sekretuar fazda OPN konsantrasyonları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (146). Düşüklere yol açabilecek endometriyal adezyon molekül ekspresyon anomalilerini inceleyen bir çalışmada hasta ve kontrol gruplarında OPN ekspresyonları arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (147).

IRPL üzerinde çalışılmış sınırlı sayıda osteopontin çalışması bulunmasına rağmen bu konudaki prognostik değeri halen yeterince bilinmemektedir. Çalışmamızda tekrarlayan gebelik kaybı yaşanan endometriyumda sağlıklı endometriyuma göre embriyonun endometriyuma tutunmasında ve burada yaşamını sağlıklı olarak sürdürmesinde aktif rol oynayan matriks proteinlerinin azalmış olmasını beklenerek IRPL hastası endometriyumu kontrol endometruma göre daha az OPN proteini bulundurur hipotezini kurulmuştur. Yapılan immunohistokimyasal çalışmanın sonucunda hasta grubundaki endometriyumlarında OPN protein oluşumlarının kontrol grubundaki endometriyumlara kıyasla daha az olduğu görülmüştür ancak aradaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. OPN ile boyanmanın lokalizasyonuna göre spesmenler ayrıntılı incelendiğinde hasta grubundaki endometrial dokuların, gland epitel hücrelerinin, yüzey epitel hücrelerinin ve stromal hücrelerin her üçü de OPN ile zayıf boyandığı görülmüştür. Bir diğer elde edilen sonuç da progesteron ortalama değerlerinin hasta ve kontrol grubunda farklı olmasıdır. Hasta grubundaki progesteron ortalama değerleri kontrol grubundakilere göre yüksek bulunmuştur ve bu durum istatistiksel olarak anlamlı değerlendirilmiştir. Bu sonuç OPN ekspresyonunun progesteronla arttığını gösteren çalışmalara karşıt bir görüş ortaya koymuştur (148).

Hormon regülasyonu ile endometriyal integrinleri araştıran bir çalışmada ise progesteronla OPN miktarının azaldığı gösterilmiştir (149). Ayrıca progesteron değeri 4-9 arasında olan hastaların OPN ile boyanma yüzdesi progesteron değeri 10

ve üzeri olanlara göre daha düşük bulunmuştur. Hastalarda OPN ile boyanma progesteronla doğru ilişkili olarak artmıştır. Bu durum embriyoya lokal endometriyal cevapta integrin ekspresyonunun hassas dengesinin bozulması ile açıklanabilir. Luteal fazda overden salgılanan progesteron, endometriyal reseptivite için vazgeçilmez bir hormondur. Uygun östrojen ve progesteron düzeyi ile endometriyal yatak embriyonun implantasyonuna ve burada yaşamını devam ettirebilmesine uygun hale gelir. Bunu lokal olarak salgılanan integrinler sayesinde yerine getirir.

Sonuç olarak yapılacak daha kapsamlı çalışmalarla istatistiksel olarak anlamlı sonuçlara ulaşılabilir. IRPL hasta grubunda artan progesteronla OPN miktarının arttığı sonucu ile IRPL hastalarına luteal fazda progesteron desteği verilebilir (150).

Menstruasyonun sekretuar fazında bulunan implantasyon penceresinde endometriyum epitelinde temel olarak dört hücre tipi belirginleşir; mikrovilliden zengin hücreler, pinopod hücreleri, veziküler hücreler ve silyalı hücreler (151). Bu hücreler çevreleri ve komşu hücreler ile endositozis, transitozis ve exositozis gibi aktif iletişim işaretleri gösterirler (152). Bu sayede endometriyum yüzey epiteli apokrin ve holokrin sekresyon yapabilir (153). İmplantasyon penceresinde endometriyum epitelinde ortaya çıkan moleküler ve morfolojik olarak en karakteristik hücre, uterus kubbesi de denilen pinopod hücreleridir (154). Bu hücreler moleküler biyomarkırlardan zengin yoğun salgı üretirler, aynı zamanda hücre yüzeylerinde östrojen ve progesteron reseptörleri bulundurdukları için hormon duyarlıdırlar (154). Yüzey epitelindeki pinopodlar blastokistin tutunması, adezyonu için alan temin ederler (155,156). Endometriyal pinopodların transmission electron microscopy (TEM) ve scanning electron microscopy (SEM) ile görüntülenmiş karakteristik gelişim evreleri vardır (157). Yüzeyinde küçük çıkıntıları olan pinopoda gelişmekte olan pinopod, yüzeyi küre şeklinde olan pinopoda gelişmiş pinopod ve buruşuk görümlü olan pinopoda da regrese olmuş pinopod denilir (158). Endometriyal epiteldeki pinopod dağılımının önemini anlatan bir çalışmaya göre normal fertil bir kadında, implantasyon penceresinde endometriyum yüzeyinin %50'den fazlasını pinopodlar kaplamalıdır. Endometriyum yüzeyinin özellikle %10'dan azını kaplayan pinopodlara sahip kadınlar ise tekrarlayan implantasyon başarısızlığına uğrarlar (159)

Bu çalışmada amacımız elektron mikroskopi ile midluteal fazda implantasyon penceresinde endometriyum epiteli yüzeyinde oluşan pinopodların dağılımlarını ve morfolojilerini İT GK hasta ve kontrol gruplarında kıyaslamaktır.

İnfertilite nedeni olan bir genital tüberküloz araştırmasında hasta kadınların kontrollere kıyasla anlamlı derecede daha az yoğunlukta pinopod oluşturduğu gözlenmiştir (160). Levonorgestrelli rahim içi araç kullanımının endometriyal yüzeye yaptığı etkilerini inceleyen bir çalışmada tedavi öncesine göre pinopodların daha yumuşak ve düz olduğu gösterilmiştir (158). Bu çalışmada progesteronun pinopodlar üzerine olan geliştirici ve çoğaltıcı etkisi görülmüştür. Bir İT GK araştırmasında hasta grubunda kontrol grubuna göre pinopod morfolojisi ve dağılımı arasında fark bulunmamıştır (161). Başka bir İT GK araştırmasında ise fertil gruba kıyasla İT GK grubunda daha az yoğunlukta ve kötü morfolojide pinopod oluşumundan bahsedilmiştir (162). Çalışmamızda ise kontrol gruba kıyasla hasta grupta pinopod yoğunluğunun az ve morfolojisinin düşük olduğu tespit edilmiştir. Endometriyal reseptivite belirteçlerinden olan pinopodların birim endometriyal alanda yoğunlukları arttıkça ve morfolojileri geliştikçe implantasyona verimli bir endometriyum oluşturdukları İV F çalışmalarından bilinmektedir (163,164). Bu hipotezle yola çıkıldığında gebeliğin sağlıklı oluşumu ve sağlıklı devamı için gerekli reseptif endometriyumun vazgeçilmez oluşumlarından biri de elektron mikroskobu ile görüntülenebilen pinopodlardır. Endometriyal alanın %20'sinden azında pinopod oluşturan kadınlarda başarısız gebeliklerin oluşması, oluşmuş gebeliklerin de devam etmemesi gibi sonuçlarla karşılaşılması mümkündür. İmplantasyon penceresinde endometriyal yüzeyde serum progesteron miktarı ile ilişkili olarak gelişim gösteren pinopodlar embriyonun tutunması, implantasyonu ve invazyonu için gereklidir. Pinopodlar bu görevleri yapılarında buldukları moleküler sinyaller ve holokrin salgılarıyla yerine getirirler. Bu haberleşme ve salgılama yolları henüz tam olarak anlaşılabilmiştir ancak tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olanlarda ve tekrarlayan gebelik kaybı yaşayanlarda bu yollarla bozukluk olduğu aşikardır. Endometriyum birim alanda pinopod miktarı az olan bireylerde embriyonun tutunması, implantasyonu ve invazyonu güç olacaktır. Yine morfolojisi bozuk pinopodlara sahip bireyler de aynı problemleri yaşayacaklardır. Yetersiz yoğunlukta

ve gelişimde olan pinopodlar yeterli sinyalleşme yapamayacakları için embriyoyu endometriyum içinde sağlıklı olarak barındıramayacaklardır.

Pinopod oluşumu sadece implantasyon periyoduna özgü olduğu için değerlendirilmesi çok zor bir parametre olarak görülmektedir. Elektron mikroskopunun daha ulaşılabilir bir yöntem haline geldiği vakit pinopod incelemesinin kullanımı endometriyal reseptiviteyi tayin etmede daha değerli hale gelebilir.

Steroid hormon yapıda olan D vitamininin kalsiyum-fosfor dengesinde ve kemik metabolizmasındaki etkileri çok iyi bilinmektedir (165). D vitamini bazı biyolojik fonksiyonlarını steroid/tiroid nükleer reseptör ailesinin bir üyesi olan vitamin D reseptörü (VDR) üzerinden gerçekleştirmektedir (166). VDR'nin kalsiyum regüle edici dokularda, bağırsaklarda, iskelet sisteminde, paratroid bezlerinde ve ovaryum, uterus, plasenta, testis ve hipofiz gibi üreme organlarında bulunduğu gösterilmiştir (167). Son yıllarda yapılan araştırmalarla D vitamininin üreme fizyolojisinde de kritik rolü olduğu kanıtlanmıştır. Vitamin D'nin fertilitate ve üreme kapasitesindeki önemini araştıran çalışmalarda, başarılı kadın üremesi için kritik bir rolü olmadığına bazı araştırmacılar inansa da, vitamin D eksikliği oluşturulan farelerde çiftleşme sıklığının azaldığı, fertilitate oranlarının düştüğü, Littre bezlerinin atrofiye uğradığı ve neonatal büyümenin yavaşladığı gösterilmiştir (168). Yine benzer kanıtlar erkek ratlarda da saptanmıştır (169). Diğer taraftan toplanan veriler, sağlıklı popülasyonda D vitamini eksikliğinin yüksek oranda bulunduğunu, vitamin D depolarının dolu olmasının birçok fizyolojik olayın gerçekleştirilmesine yararlı katkılar sağladığını ve bu vitaminin eksikliğinde birçok hastalığın ortaya çıktığını göstermektedir (170). Bütün bu kanıtlar göz önüne alındığında, rutin infertilitate nedenlerinin araştırılmasında D vitamini durumunun da göz önünde tutulması ve olası yararlı etkilerinden dolayı uygun suplementasyon tedavisinin yapılması büyük önem arz etmektedir (171).

Tüm bu veriler ışığında bu çalışmada amacımız infertilitate önemli olan D Vitamininin tekrarlayan gebelik kaybı ile de ilişkisinin olabileceğini araştırmaktır. Fetomaternal etkileşimde immünoregülasyonda rol oynadığı bilinen D vitamininin İTGM hasta grubundaki düşüklüğünün bu hastalık için prognostik bir değer taşıyabileceğini öngörmekteyiz.

Vitamin D yer aldığı her dokuda hormon sekrete eder, immün cevabı regüle eder, hücrel çoğalmayı ve dönüşümü kontrol eder (167). Vitamin D'nin T helper 1 (Th 1) hücrelerinin çoğalmasını inhibe ettiği ve interferon gamma (IFN-g), interlökin-2 (IL-2) ve tümör nekrozis faktör-alfa (TNF-a) gibi sitokinlerin yapımını sınırlandırdığı rapor edilmiştir (172). Tersine vitamin D, T helper 2 (Th 2) sitokinlerinden olan IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 ve IL-13'ün sentezini ise artırır (8). Dahası, çoğu çalışmada vitamin D, Th 1 aracılı otoimmün hastalıklar için modifiye edilebilir bir faktör olarak sunulmuştur (173). Vitamin D, B lenfositlerin çoğalmasını ve Ig G üretimini inhibe ederek B hücre immünitesini de regüle eder (172). Vitamin D'nin immün modülatör etkileri doğrultusunda implantasyon periyodunda immün regülatör olarak hareket edebileceği ve üreme kapasitesinde önemli rol oynayabileceği son yapılan tartışmalar arasındadır. Erken gebelikte trofoblastlar vitamin D üretirler. Bazı araştırmacılar vitamin D'nin lokal antiinflamatuvar cevabı artırarak başarılı gebelik için desidualizasyonu indüklediğini göstermişlerdir (174). Bazıları da yeterli vitamin D düzeyinin başarılı IVF gebeliği ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır (175). Vitamin D'nin insan üremesi üzerinde önemli bir faktör olduğu her geçen gün değerlendirilmektedir. Ancak tekrarlayan gebelik kayıplarında vitamin D'nin önemi henüz çalışılmamıştır.

Gebe kadınlarda vitamin D eksikliğinin preeklamsi, erken doğumla ilişkili bakteriyel vajinozis, gestasyonel diyabet gibi gebelik komplikasyonlarına yol açtığı gösterilmiştir (176-178). Bir çalışmada vitamin D eksikliğinin (<30 ng/ml) artmış hücrel otoimmüniteye neden olarak RPL ile ilişkisi olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada vitamin D eksikliği olan RPL hasta grupta kontrol grubuna kıyasla daha fazla antifosfolipid antikor sendromu olan vaka tespit edilmiştir (179). Çalışmamızda ise IRPL hasta grupta kontrol grubuna göre vitamin D eksikliği (<20 ng/ml) daha belirgin olarak bulunmuştur ve bu durum istatistiksel olarak anlamlı değerlendirilmiştir. Antifosfolipid antikor sendromu tespit edilmiş hastalar baştan çalışma dışı bırakıldığı için vitamin D düzeyi ile antifosfolipid antikor sendromu durumu arasındaki ilişki incelenmemiştir.

İntrauterin inseminasyon yapılan PCOS'lu kadınlarla yapılan bir çalışmada vitamin D tedavisi ile menstruel siklus başında ve ortasında endometriyal kalınlığın arttığı ancak bunun gebelik başarısı üzerine etkisinin olmadığı bulunmuştur (180).

Çalışmamızda da hasta grubunda perioovulatar ve midsekretuar dönem endometriyum kalınlıklarının vitamin D düzeyi ile ilişkili olmadığı bulunmuştur.

Çalışmamızda immunregülatuar görevi olan vitamin D eksikliğinin, antifosfolipid antikor sendromu ve diğer otoantikorlar olmadan da, IRPL ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Vitamin D ölçümünün gebelik planlayan her kadında rutin olarak yapılması, gelişebilecek düşüklere öngörü açısından pratik olabilir. Vitamin D düzeyi düşük tespit edilenlere replasman tedavisinin yapılması bir opsiyon olarak fertilitite kliniklerine sunulabilir.

Endometriyum sekretuar fazda fertilize ovumun implantasyonu için morfolojik ve fonksiyonel olarak hazırlanır. Endometriyumun maturasyon süreci ovaryan sex steroidleri ile regüle olur. Klinik pratikte, endometriyum maturasyonunun morfolojisi histolojik değerlendirme ve ultrason bakışı ile öğrenilebilir. Histeroskopi kadın infertilitesine yol açabilen endometriyal patolojilerin araştırılmasında kullanılmasına rağmen endometriyum morfolojisini değerlendirmede genellikle tercih edilmez (181,182). Önceki çalışmalar yapılan histeroskopik gözlemlerin endometriyumun fonksiyonel durumunu değerlendirmede yararlı morfolojik bilgiler sağladığını göstermiştir (183). Endometriyum yüzeyinde menstruel faza göre değişiklik gösteren gland açılımları ve damar yapıları gözlenmiştir (184). Bazı histeroskopistler maksimum glanduler sekresyon yapan yuvarlak tip gland açılımlarını ve iyi gelişmiş vasküler ağ oluşumlarını iyi endometriyum olarak değerlendirirken; sekretuar olmayan nokta tip gland açılımlarını ve ince vasküler oluşumları kötü endometriyum olarak değerlendirmişlerdir. Histeroskopi bulguları iyi olan vakalarda kötü olanlara göre IVF gebeliklerin başarı şansı daha yüksek bulunmuştur.

Bu çalışmada amacımız endometriyum morfolojisini midsekretuar fazda histeroskopik gözlem kaydı yaparak değerlendirmektir. Hasta grupta morfolojik olarak kötü endometriyumun, kötü endometriyal reseptiviteye yol açarak tekrarlayan gebelik kaybı ile ilişkili olabileceğini öngörmekteyiz.

Histeroskopi görüntülerini inceleyen bir çalışmada kötü endometriyal görünümlü endometriyumlara sahip vakalarda daha fazla infertilite ve erken gebelik kayıplarıyla karşılaşıldığı rapor edilmiştir (185). Çalışmamızda İTGM hasta grubunda kötü endometriyumun histeroskopik izlenimleri olan nokta tip gland açılımları ve ince vasküler ağ yapılarının yoğun olarak görüldüğü belirlenmiştir. Kontrol grubun

tamamının gland yapıları yuvarlak tip açılımlı, vasküler yapıları kalın ağlar şeklinde olup iyi görümlü endometriyumlara sahip olduğu belirlenmiştir. Kötü endometriyum blastokistin yapışacağı ve yerleşeceği alanı yeterli ve uygun hazırlayamadığı için tekrarlayan implantasyon başarısızlıklarına neden olur. Yuvarlak tip açılımı olan glandlar yeterli miktarda sekresyon yaparak, kalın damar ağları da yeterli beslenme sağlayarak endometriyuma yapışan embriyonun sağlıklı bir şekilde gelişimini sağlarlar.

Literatür araştırmasında bizim çalışmamızdan başka luteal fazda histeroskopik görünümleri inceleyen tek çalışma olduğu için bu konu araştırmaya açık bir konu olma özelliği taşımaktadır. Her ne kadar luteal fazda endometriyal reseptivite moleküler belirteçlerle tanımlanabilirse de, histeroskopik gözlem kaydının standardizasyonu ile de daha pratik anlamda değerlendirme yapılabilir.

SONUÇ

İdiopatik tekrarlayan gebelik kaybı olan hastaların sekretuar fazda implantasyon penceresindeki endometriyal reseptivitelelerini kontrol vakalarınkiyle karşılaştırdığımız çalışmada elde edilen sonuçlar şunlardır;

1. Ultrasonografik endometriyum kalınlık ölçüm değeri ve skorlanması anlamlı hasta grubunda düşük düzeylerde bulunmuş ve bu durum istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Ancak, endometriyum tiplendirmesi açısından gruplar arasında fark anlamlı bulunmamıştır.
2. Biyopsi materyalinin immunohistokimyasal olarak pentraxinle boyanma hasta grubunda sık görülmüş ve bu durum istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Fakat, annexin ve osteopontinle boyanma gruplarda benzer olarak değerlendirilmiştir.
3. Doku örneğinin scanning elektron mikroskopide incelenmesiyle hasta grubunda pinopod yoğunluğunun düşük ve pinopod morfolojisinin geri olduğu tespit edilmiş ve bu durum istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.
4. Histeroskopik gözlemlerle değerlendirilen endometriyal gland açılımlarının hasta grubunda daha çok noktasal yapıda olduğu ve damar yapılarının da hasta grubunda daha kalın ağlar yapmış olduğu izlendi. Bu durum istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.
5. Hasta grubun serum 25-OH-V D değeri kontrol gruba göre daha düşük seviyede tespit edilmiştir.

Endometriyal kalınlık, pentraxinle boyanabilirlik, pinopod dağılımı ve morfolojisi, histeroskopik gözlem, serum vitamin D düzeyi idiyopatik tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda endometriyal reseptivitenin tayininde kullanılabilir birer belirteç olabilirler.

KAYNAKLAR

1. Alatas E, Tekrarlayan Gebelik Kayıplarında Tanı ve Tedavinin Yönlendirilmesi, TJOD Uzmanlık Sonrası Eğitim Dergisi 2004;6:19-25
2. Raga F, Bonilla-Musoles F, Casan~ EM, et al. Assessment of endometrial volume by three-dimensional ultrasound prior to embryo transfer: clues to endometrial receptivity. Hum Reprod. 1999;14:2851Y2854.
3. Dimitriadis E, White CA, Jones RL, et al. Cytokines, chemokines and growth factors in endometrium related to implantation. Hum Reprod Update. 2005;11:613Y630
4. Martí'n JC, Jasper MJ, Valbuena D, Meseguer M, Remohí' J, Pellicer A, Simo'n C. Increased adhesiveness in cultured endometrial-derived cells is related to the absence of moesin expression. Biol Reprod 2000; 63:1370–1376.
5. Rovere P, Peri G, Fazzini F, Bottazzi B, Doni A, Bondanza A, Zimmermann VS, Garlanda C, Fascio U, Sabbadini MG, Rugarli C, Mantovani A, Manfredi AA 2000 The long pentraxin PTX3 binds to apoptotic cells and regulates their clearance by antigen-presenting dendritic cells. Blood 96:4300–4306
6. Liaw L, Birk DE, Ballas CB, Whitsitt JS, Davidson JM, et al. (1998) Altered wound healing in mice lacking a functional osteopontin gene (spp1). J Clin Invest 101: 1468–1478
7. Usadi RS, Murray MJ, Bagnell RC, et al. Temporal and morphologic characteristics of pinopode expression across the secretory phase of the endometrial cycle in normally cycling women with proven fertility. Fertil Steril 2003;79:970-4.
8. Viganò P, Lattuada D, Mangioni S, Ermellino L, Vignali M, Caporizzo E, et al. Cycling and early pregnant endometrium as a site of regulated expression of the vitamin D system. J Mol Endocrinol. 2006;36:415–424
9. CliffordK,Rai R, ReganL. Future pregnancy outcome in unexplained recurrent first trimestr miscarriage. Hum Reprod 1997;12:387-389.

10. Roberts CP, Murphy AA. Endocrinopathies Associated with recurrent pregnancy loss. *Semin Reprod Med* 2000;18:357-362.
11. Regan L, Brande PR, Trembath PL. Influence of postreproductive performance on risk of spontan abortion. *BMJ* 1989;299:541-545.
12. Dawood F, Quenby S, Farquharson R. Recurrent miscarriage: an overview. *Reviews in Gynaecological Practice* 2003;3:46-50.
13. Simon C, Rubio C, Vidal F, Moreno C, Parilla J, Pellicer A. Increased chromosome abnormalities in human preimplantation embryos after in vitro fertilization in patients with recurrent miscarriage. *Reprod Fertil Dev* 1998;10:87-92.
14. Munne S, Magli C, Cohen J et al. Positive outcome after preimplantation diagnosis of aneuploidy in human embryos. *Hum Reprod* 1999;14:2191-2199.
15. Hassold TJ. Acytogenetic study of repeated spontaneus abortions. *Am J Hum Genet* 1980;32:723-730.
16. Clifford K, Rai R, Watson H, Regan L. An informative protocol for the investigation of the recurrent miscarriage: Preliminary experience of 500 consecutive cases. *Hum Reprod* 1994;9:1328-1332.
17. Noyes RW, Hertig ATR, Rock J. Dating the endometrial biopsy. *Fertil Steril* 1975;122:262-263.
18. Tulppala M, Bjorses UM, Stenman UH, Wahlstrom T, Ylikorkala O. Luteal phase defect in habitual abortion progesterone in saliva. *Fertil Steril* 1991;56:41-44.
19. Stagnaro-Green A, Roman SH, Cobin RH, El-Harazy E, Alvarez-cMarfany M, Davies TF. Detection of at-risk pregnancy by means of a highly sensitive assay for thyroid antibodies. *JAMA* 1990;264:1422-1425.
20. Mills JL, Simpson JL, Driscoll SG et al. HICHD-DIEP Study: incidence of spontan abortion among normal women with insulindependent diabetic women whose pregnancies were identified within 21 days of conception. *N Engl J Med* 1988;319:1617-1623.
21. Tulppala M, Stenman UH, Cacciato B, Ylikorkala O. Polycystic ovaries and levels of gonadotropins and androgen in miscarriage: prospective study in 50 women. *Br J Obstet Gynaecol.* 1993;100:348-352.
22. Ridker P, Miletich M, Buring J et al. Factor V Leiden mutation as a risc factor for recurrent pregnancy loss. *Ann Intern Med* 1998;128:1000-1003.

23. Cowchock FS, Reece EA, Balaban D, Branch DW, Plouffe L. Repeated fetal losses associated with antiphospholipid antibodies: A collaborative randomized trial comparing prednisone with low dose heparin treatment. *Am J Obstet Gynecol* 1992;166:1318-1323.
24. Branch DW, Peaceman AM, Druzin M, et al. A multicenter, placebo controlled pilot study of intravenous immune globulin treatment of antiphospholipid syndrome during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000;182:122-127.
25. Cowchock FS, Reece EA. Do low-risk antiphospholipid antibodies need to be treated? *Am J Obstet Gynecol* 1997;176:1099-1100.
26. Pattison NS, Chamley LW, Birdsall M, Zanderigo AM, Liddel HS, McDougall J. Does aspirin have a role in improving pregnancy outcome for women with the antiphospholipid syndrome? A randomized controlled trial. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:1008-1012.
27. Rai R, Cohen H, Dave M, Regan L. Randomized controlled trial of aspirin plus heparin in pregnant women with recurring miscarriage associated with antiphospholipid antibodies. *BMJ* 1997;314:253-257.
28. Kutteh WH. Antiphospholipid antibody-associated recurrent pregnancy loss: treatment with heparin and low dose aspirin is superior to low dose aspirin. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:1584-1589.
29. Empson M, Lassere M, Craig JC, Scott JR. Recurrent pregnancy loss with antiphospholipid antibody: A systemic review of therapeutic trials. *Obstet Gynecol* 2002;99:135-143.
30. Zacur HA, Goodman SB. Repeated pregnancy loss. Wallach EE, Zacur HA (eds). *Reproductive medicine and surgery*. Mosby year-book, Inc: 1995:881-894.
31. Regan L, Braude PR, Hill DP. A prospective study of the incidence, time of appearance of, significance of anti-paternal lymphocytotoxic antibodies in human pregnancy. *Hum Reprod* 1991;6:294-298.
32. Coulam CB, Clark DA, Collins J, Scott JR. Worldwide collaborative observational study and meta-analysis on allogeneic leukocyte immunotherapy for recurrent spontaneous abortion. *Am J Reprod Immunol* 1994;23:55-72.
33. Ober C, Karrison T, Odem RR et al. Mononuclear cell immunisation in prevention of recurrent miscarriages: a randomized trial. *Lancet* 1999;354:365-369.

34. Choi BC, Polgar K, Xiao L, Hill JA. Progesterone inhibits in vitro embryotoxic Th 1 cytokine production to trophoblast in women with recurrent pregnancy loss. *Hum Reprod* 2000;15:46-59.
35. Adelberg A, Kuller Ja. Thrombophilias and recurrentmiscarriage. *Obstet Gynecol Survey* 2002;57:703-709.
36. Hague MW. Homocysteine and pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gyneacol.* 2003;17:459-469.
37. McGlennen RC, Key NS. Clinical and laboratory management of the prothrombin G20210A mutation. *Arch Pathol Lab Med* 2002;126:1319-1325.
38. Pauer HU, Voigt-Tschirschwitz T, Hinney B, et al. Analyzes of three common thrombophilic gene mutations in German women with recurrent abortions. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2003;82:942-947.
39. Rey E, Kahn SR, David M, Shrier I. Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis. *Lancet* 2003;361:901-908.
40. Regan L, Rai R. Thrombophilia and pregnancy loss. *J Reprod Immunol* 2002;55:163-180.
41. Kupfermanc MJ, Eldor A, Steinman N et al. Increased frequency of genetic thrombophilia inwomanwith complications of pregnancy. *New Engl J Med* 1999;340:9-13.
42. Smith GC, Pell JP,Walsh D. Spontaneous loss of early pregnancy and risc of ischaemic heart disease in later life: retrospective cohort study. *BMJ* 2003;326:423-424.
43. Moore KL, Persaud TVN. İnsan Gelişiminin Başlangıcı. Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi, Altıncı İngilizce Baskıdan Çeviri, Yıldırım M, Okar İ, Dalcık H. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2002; 1-47.
- 44.Roos MH, Kaye GI, Pawlina W. Female Reproductive System. *Histology a Text and Atlas with Celi and Molecular Biology*, Fourth Ed. Baltimore: Williams&Wilkins, 2003;743-63.
45. Maugey-Laulom B, Commenges-Ducos M, Jullien V, Papaxanthos-Roche A, Scotet V, Commenges D. Endometrial vascularity and ongoing pregnancy after IVF. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Bio* 2002;104:137-43.

46. Dey SK, Das SK, Reese J, Paria BC, Daikoku T, Wang H. Molecular cues to implantation. *Endocr Rev* 2004;25:341-73.
47. Nardo LG. Human embryo implantation failure and recurrent miscarriage: basic science and clinical. *Reprod Biomed Online* 2006;13:11-2.
48. Achache H, Revel A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. *Hum Reprod Update* 2006;12:731-46.
49. Strowitzki T, Germeyer A, Popovici R, Wolff M. The human endometrium as a fertility-determining factor. *Hum Reprod Update* 2006;12:617-30.
50. Giudice LC. Potential biochemical markers of uterine receptivity. *Hum Reprod* 1999;14:3-16.
51. Hoozemans DA, Schats R, Lambalk CB, Homburg R, Hompes PGA. Human embryo implantation: current knowledge and clinical implications in assisted reproductive technology. *Reprod Biomed Online* 2004;9:692-715.
52. Makrigiannakis A, Minas V. Mechanisms of implantation. *Reprod Biomed Online* 2007; 14:102-9.
53. Noyes RW, Hertig AT, Rock J. Dating the endometrial biopsy. *Am J Obstet Gynecol* 1975; 122(2): 262-3.
54. Rogers P, Leeton J. Uterine receptivity and embryo transfer. Trounson AO, Gardner DK, *Handbook of in vitro fertilization*, 2nd Ed. CRC Press. 2000;499-528.
55. Enders AC, Nelson DM, Pinocytotic activity of the uterus of the rat. *Am Janat* 1973; 138:277-99.
56. Nardo LG, Sabatini L, Rai R and Nardo F. Pinopode expression during human implantation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Bio* 2002;101:104-8.
57. Leach RE, Khalifa R, Armant R, Brudley A, Das SK, Dey SK, Fazleabas AT. Heparin-binding EGF-like growth factor modulation by antiprogestin and CG in baboon. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:4520-8.

58. Nikas G. Pinopodes as markers of endometrial receptivity in clinical practice. *Hum Reprod* 1999; 14: 99-106.
59. Nikas G, Aghajanova L. Endometrial pinopodes: some more understanding on human implantation? *Reprod Biomed Online* 2002;4:18-23.
60. Develioglu OH, Nikas G, Hsiu JG, Toner JP, Jones HW. Detection of endometrial pinopodes by light microscopy. *Fertil&Steril* 2000;74:767-70.
61. Stavreus-Evers A, Nikas G, Sahlin L, Eriksson H, Landgren B-M. Formation of pinopodes in human endometrium is associated with the concentrations of progesterone and progesterone receptors. *Fertil&Steril* 2001; 76:782-91.
62. Nikas G, Psychoyos A. Uterine pinopodes as markers of uterine receptivity. *Assist Reprod Rev* 1994;4:26-32.
63. Nikas G, Psychoyos A. Uterine pinopods in peri-implantation human endometrium. Clinical relevance. *Ann N Y Acad Sci* 1997;816:129-42.
64. Lessey BA. Two pathways of progesterone action in the human endometrium: implications for implantation and contraception. *Steroids* 2003;68:809-15.
65. Defrere S, Van Langendonck A, Moulin P, Befahy P, Gonzalez D, Martinez-Madrid B, Dolmans MM, Donnez J. Human endometrial epithelial cells (EEC) constitutively express more intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 than endometrial stromal cells (ESC) in culture. *Am J Reprod Immunol* 2005;54:5-12.
66. Thathiah A and Carson DD. MT1-MMP mediates MUC1 shedding independent of TACE/ADAM17. *Biochem J* 2004; 382:363-73.
67. Dimitriadis E, White CA, Jones RL, Salamonsen LA. Cytokines, chemokines and growth factors in endometrium related to implantation. *Hum Reprod Update* 2005;11:613-30.
68. Kondera-Anasz Z, Sikora J, Mielczarek-Palacz A, Jonca M. Concentrations of interleukin (IL)-1 alpha, IL-1 soluble receptor type II (IL-1 sRII) and IL-1 receptor antagonist (IL-1 Ra) in the peritoneal fluid and serum of infertile

women with endometriosis. Eur J Obstet Gynecol Reprod Bio 2005;123:198-203.

69. Wolff M, Thaler CJ, Zepf C, Becker V, Beier HM, Strowitzki T. Endometrial expression and secretion of interleukin-6 throughout the menstrual cycle. Gynecol Endocrinol 2002b; 16:121:29.

70. Huang JC, Wun WSA, Goldsby JS, Wun IC, Noorhasan D, Wu KK. Stimulation of embryo hatching and implantation by prostacyclin and peroxisome proliferator-activated receptor activation: implication in IVF. Hum Reprod 2007;22:807-14.

71. Ye X, Hama K. LPA3-mediated lysophosphatidic acid signalling in embriyo implantation and spacing. Nature 2005;435:104-8.

72. Haldun Güner: Cerrahi histeroskopi: Jinekolojik ve Obstetrikal Cerrahi 69:1105,2005

73. Recai Pabuçcu: Tanısal ve Operatif Histeroskopi:Temel Kadın ve Doğum bilgisi 26:1390,1996.

74. Rubin C. Uterine endoscopy: Endometroskopy with the aid of uterine insufflation. Am J Obstet Gynceecology 10:313, 1925

75. Fourestier M, Gladu A, Vulmiere J: Perfection nements de l'endoscope medicale. Presse Med 60:1292,1952

76. Palmer R.Un nouvel Hysteroscope. Bull Fed Soc Gynecol Obstet Franc.9:300,1957

77. Levine RU, Neuwirth RS. Simultaneous laparoscopy and hysteroscopy for intrauterine adhesions. Obstet Gynecol 1980; 50: 760-762.

78. Hamou J, Taylor PJ.:Panoramik, contact nad microcolpohysterescopy in gynecologic practice. Curr. Prob. Obstet Gynecol Vot VI, No 2 (oct 82).

79. Haldun Güner: Cerrahi histeroskopi: Jinekolojik ve Obstetrikal Cerrahi 71:1140,2005

80. Erenus M., Sezen D: Ongoing pregnancy in a woman who inadvertently underwent Office hysteroscopy during early pregnancy. *Fertil Steril* 2005 Jan;83(1) 211-2
81. Litta P, Cosmi E, Sacco G, Saccardi C, Ciavattini A, Ambrosini G.: Hysteroscopic permanent tubal sterilization using a nitinol-dacron intratubal device without anaesthesia in the outpatient setting: procedure feasibility and effectiveness. *Hum Reprod.* 2005 Dec;20(12):3419-22.
82. Biewenga P, de Blok S, Birnie E.: Does diagnostic hysteroscopy in patients with stage I endometrial carcinoma cause positive peritoneal washings? *Gynecol Oncol* 2004 Apr;93(1):194-8
83. Bradley WH, Boente MP, Brooker D, Argenta PA, Downs LS, Judson PL, Carson LF. Hysteroscopy and cytology in endometrial cancer. *Obstet Gynecol.* 2004 Nov;104(5 Pt 1):1030-3.
84. American College of Obstetricians and Gynecologists: ACOG : technology assessment in obstetrics and gynecology:hysteroscopy: *Obstet Gynecol.* 2005 Aug;106(2):439-42.
85. Loffer FD: Contraindications and complications of hysteroscopy. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 1995 Sep;22(3):445-55.
86. Nanassy L, Liu L, Griffin J, Carrell DT. The clinical utility of the protamine 1/protamine 2 ratio in sperm. *Protein Pept Lett.* 2011; 18: 772–7.
87. Friedler S, Schenker JG, Herman A, Lewin A: The role of ultrasonography in the evaluation of endometrial receptivity following assisted reproductive treatments: a critical review. *Hum Reprod Update* 1996,323-334.
88. Liu C, Yao Y, Wang W. Pentraxin-3 as a prognostic marker in patients with small-cell lung cancer. *Med Oncol.* 2014 Oct;31(10):207.
89. Zhu W, Chen M, Liu J, Fu Z, Li X, Qin C, Liu D, Tang X. Receptivity assessment of an ultrasonographic homogeneous endometrium in

the late follicular phase of infertile women with natural cycles. *Am J Obstet Gynecol.* 2012 Dec;207(6):511.e1-7.

90. Masamoto H, Nakama K, Kanazawa K. Hysteroscopic appearance of the mid-secretory endometrium: relationship to early phase pregnancy outcome after implantation. *Hum Reprod.* 2000 Oct;15(10):2112-8.

91. Sher G, Dodge S, Maassarani G, Knutzen V, Zouves C, Feinman M. Management of suboptimal sonographic endometrial patterns in patients undergoing in-vitro fertilization and embryo transfer. *Hum Reprod.* 1993; 8: 347–349.

92. Coulam CB, Bustillo M, Soenksen DM, Britten S. Ultrasonographic predictors of implantation after assisted reproduction. *Fertil Steril.* 1994; 62:1004–1010.

93. Oliveira JB, Baruffi RLR, Mauri AL, Petersen CG, Campos MS, Franco Jr JG. Endometrial ultrasonography as a predictor of pregnancy in an in-vitro fertilization program. *Hum Reprod* 1993; 8: 1312–1315.

94. Oliveira JB, Baruffi RLR, Mauri AL, Petersen CG, Borges MC, Franco JG Jr. Endometrial ultrasonography as a predictor of pregnancy in an in-vitro fertilization programme after ovarian stimulation with gonadotrophin-releasing hormone and gonadotrophins. *Hum Reprod* 1997; 11: 2515–2518.

95. Raga F, Bonilla-Musoles F, Casan EM, et al. Assessment of endometrial volume by three-dimensional ultrasound prior to embryo transfer: clues to endometrial receptivity. *Hum Reprod.* 1999; 14: 2851-2854.

96. Remohi J, Gutierrez A, Cano F, et al. Long estradiol replacement in an oocyte donation programme. *Hum Reprod.* 1995; 10: 387-391.

97. Bonilla-Musoles F, Dolz M, Moreno J, et al. Reproducción asistida: manejo clínico. Madrid, Spain: Editorial Panamericana; 2010.

98. Friedler S, Schenker JG, Herman A, et al. The role of ultrasonography in the evaluation of endometrial receptivity following assisted reproductive treatments: a critical review. *Hum Reprod Update*. 1996; 2: 323-335.
99. Bonilla-Musoles F, Raga F, Osborne NG, Castillo JC, Bonilla F Jr. Endometrial receptivity: evaluation with ultrasound. *Ultrasound Q*. 2013 Mar; 29(1): 3-20.
100. Melo MA, Meseguer M, Garrido N, et al. The significance of premature luteinization in an oocyte-donation programme. *Hum Reprod*. 2006; 21: 1503-1507.
101. Gonen Y, Casper RF. Prediction of implantation by the sonographic appearance of the endometrium during controlled ovarian stimulation for in vitro fertilization (IVF). *J In Vitro Fert Embryo Transf*. 1990; 7: 146-152.
102. Richter KS, Bugge KR, Bromer JG, et al. Relationship between endometrial thickness and embryo implantation, based on 1,294 cycles of in vitro fertilization with transfer of two blastocyst-stage embryos. *Fertil Steril*. 2007; 87: 53-59.
103. Raine-Fenning N, Campbell B, Collier J, et al. The reproducibility of endometrial volume acquisition and measurement with the VOCAL imaging program. *Ultrasound Obstet gynecol*. 2002; 19: 69Y75.
104. Sundström P: Establishment of a successful pregnancy following in-vitro fertilization with an endometrial thickness of on more than 4 mm. *Hum Reprod*. 1998; 13: 1550-1552.
105. Al-Ghamdi A, Coskun S, Al-Hassan S, AL-Rejjal R, Awartani K: The correlation between endometrial thickness and outcome of in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET) outcome. *Reprod Biol Endocrinol*. 2008; 6: 37.
106. Weissman A, Gotlieb L, Casper RF: The detrimental effect of increased endometrial thickness on implantation and pregnancy rates and outcome in an in vitro fertilization program. *Fertil Steril*. 1999; 71: 147-149.

107. Chen SL, Wu FR, Luo C, Chen X, Shi XY, Zheng HY, Ni YP. Combined analysis of endometrial thickness and pattern in predicting outcome of in vitro fertilization and embryo transfer: a retrospective cohort study. *Reprod Biol Endocrinol.* 2010; Mar 24; 8: 30.
108. Baruffi RL, Contart P, Mauri AL, Petersen C, Felipe V, Garbellini E, Franco JG. A uterine ultrasonographic scoring system as a method for the prognosis of embryo implantation. *J Assist Reprod Genet.* 2002 Mar; 19(3): 99-102.
109. Killick SR. Ultrasound and the receptivity of the endometrium. *Reprod Biomed Online.* 2007; 15: 63-67.
110. Cohen BM, Berry L, Roethemeyer V, et al. Sonographic assessment of late proliferative phase endometrium during ovulation induction. *J Reprod Med.* 1992; 37: 685-690.
111. Fanchin R, Righini E, Ayoubi JM, et al. New look at endometrial echogenicity: objective computer-assisted measurements predict endometrial receptivity in in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril.* 2000; 74: 274-281.
112. Bosch E, Valencia L, Escudero E, et al. Premature luteinization during gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles and its relationship with in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril.* 2003; 80: 1444-1449.
113. Rashidi BH, Sadeghi M, Jafarabadi M, Nejad EST: Relationships between pregnancy rates following in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection and endometrial thickness and pattern. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004; 120: 179-184.
114. Noyes N, Hampton BS, Berkeley A, Licciardi F, Grifo J, Krey L: Factors useful in predicting the success of oocyte donation: a 3-year retrospective analysis. *Fertil Steril.* 2001; 76: 92-97.

115. Mercé LT, Barco MJ, Bau S, Troyano J: Are endometrial parameters by three-dimensional ultrasound and power Doppler angiography related to in vitro fertilization/embryo transfer outcome? *Fertil Steril*. 2008, 89: 111-117.
116. Sher G, Herbert C, Maassarani G, et al. Assessment of the late proliferative phase endometrium by ultrasonography in patients undergoing in vitro fertilization and embryo transfer (IVF/ET). *Hum Reprod*. 1991; 6: 232-237.
117. Noyes RW, Hertig AT, Rock J. Dating the endometrial biopsy. *Fertil Steril*. 1950; 1: 3.
118. Noci I, Borri P, Chieffi O, Scarsselli G, Biaglotti R, Moncini D, et al. Aging of the human endometrium: a basic morphological and immunohistochemical study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1995; 63: 181-5.
119. Paulson RJ, Sauer MV, Lobo RA. Potential enhancement of endometrial receptivity in cycles using controlled ovarian hyperstimulation with antiprogestins: a hypothesis. *Fertil Steril*. 1997; 67: 321-5.
120. Castelbaum AJ, Ying L, Somkuti SG, Sun J, Ilesanni AO, Lessey BA. Characterization of integrin expression in well differentiated endometrial a endometrial adenocarcinoma cell line (Ishikawa). *J Clin Endocrinol Metab*. 1997; 82: 136-42.
121. Yoo HJ, Barlow DH, Mardon HJ. Temporal and spatial regulation of expression of hepatic-binding epidermal growth factor-like growth factor in the human endometrium: a possible role in blastocyst implantation. *Dev Genet*. 1997; 21: 102-8.
122. Zenke U, Chetkowski RJ. Transfer and uterine factors are the major recipient-related determinants of success with donor eggs. *Fertil Steril*. 2004; 82(4): 850-6.

123. Schild RL, Knobloch C, Dorn C, Fimmers R, van der Ven H, Hansmann M. Endometrial receptivity in an in vitro fertilization program as assessed by spiral artery blood flow, endometrial thickness, endometrial volume, and uterine artery blood flow. *Fertil Steril*. 2001; 75(2): 361–6.
124. Amir W, Micha B, Ariel H, Liat LG, Jehoshua D, Adrian S. Predicting factors for endometrial thickness during treatment with assisted reproductive technology. *Fertil Steril*. 2007; 87(4): 799–804.
125. Matthew A. Barker, Lynn M. Boehnlein, Peter Kovacs, Steven R. Lindheim. Follicular and luteal phase endometrial thickness and echogenic pattern and pregnancy outcome in oocyte donation cycles. *J Assist Reprod Genet*. 2009 May; 26(5): 243–249.
126. Check JH, Gandica R, Dietterich C, Lurie D. Evaluation of a nonhomogeneous endometrial echo pattern in the midluteal phase as a potential factor associated with unexplained infertility. *Fertil and Steril*. 2003 Mar; 79(3): 590-3.
127. Check JH, Dietterich C, Lurie D. Non-homogeneous hyperechogenic pattern 3 days after embryo transfer is associated with lower pregnancy rates. *Hum Reprod*. 2000; 15: 1069–74.
128. Grunfeld L, Walker B, Bergh PA, Sandler B, Hofmann G, Navot D. High-resolution endovaginal ultrasonography of the endometrium: a noninvasive test for endometrial adequacy. *Obstet Gynecol*. 1991; 78: 200–4.
129. Yoshimitsu K, Nakamura G, Imura M, Seki M, Matsuguchi H, Hamada M, et al. Study on relationships between sonographic endometrial image and ovarian hormone levels. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi*. 1987; 39: 1769–75.
130. Sterzik K, Abt M, Grab D, Schneider V, Strehler E. Predicting the histologic dating of an endometrial biopsy specimen with the use of Doppler ultrasonography and hormone measurements in patients undergoing spontaneous ovulatory cycles. *Fertil Steril*. 2000; 73: 94– 8.

131. Hsieh YY, Chang FC, Tsai HD. Doppler evaluation of the uterine and spiral arteries from different sampling sites and phases of the menstrual cycle during controlled ovarian hyperstimulation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2000; 16: 192–6.
132. Edgell TA, Rombauts J, Salamonsen LA. Assessing receptivity in the endometrium: the need for a rapid, non-invasive test. *Reprod Biomed Online.* 2013 Nov;27(5):486-96.
133. Lim LH, Pervaiz S. Annexin 1: the new face of an old molecule. *FASEB J* 2007; 21: 968-975.
134. Udry S, Aranda F, Latino O, Larrañaga Gd. Annexins and recurrent pregnancy loss. *Medicina (B Aires).* 2013;73(5):495-500.
135. Singh NK, Yadav DP, Gupta A, Singh U, Godara M. Role of anti-annexin A5 in pathogenesis of hypercoagulable state in patients with antiphospholipid syndrome. *Int J Rheum Dis.* 2013 Jun;16(3):325-30.
136. Cao Y, Zhang Z, Xu J, Yuan W, Wang J, Huang X, Shen Y, Du J. The association of idiopathic recurrent pregnancy loss with polymorphisms in hemostasis-related genes. *Gene.* 2013 Nov 10;530(2):248-52.
137. Ueki H, Mizushina T, Laoharatchathanin T, Terashima R, Nishimura Y, Rieanrakwong D, Yonezawa T, Kurusu S, Hasegawa Y, Brachvogel B, Pöschl E, Kawaminami M. Loss of maternal annexin A5 increases the likelihood of placental platelet thrombosis and foetal loss. *Sci Rep.* 2012;2:827.
138. Kamal AM, Flower RJ, Perretti M. An overview of the effects of annexin 1 on cells involved in the inflammatory process. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2005 Mar;100 Suppl 1:39-47.
139. May L, Kuningas M, van Bodegom D, et al. Genetic variation in pentraxin (PTX) 3 gene associates with PTX3 production and fertility in women. *Biology of Reproduction* 2010;82(February):299–304.

140. Garlanda C, Maina V, Martinez dlT, Nebuloni M, Locati M. Inflammatory reaction and implantation: the new entries PTX3 and D6. *Placenta* 2008;29(Suppl. B):129–34.
141. Tranguch S, Chakrabarty A, Guo Y, Wang H, Dey SK. Maternal pentraxin 3 deficiency compromises implantation in mice. *Biology of Reproduction* 2007;77:425–32.
142. Hess AP, Hamilton AE, Talbi S, et al. Decidual stromal cell response to paracrine signals from the trophoblast: amplification of immune and angiogenic modulators. *Biology of Reproduction* 2007;76:102–17.
143. Coombes JD, Syn WK. Differential osteopontin functions: The role of osteopontin isoforms. *Hepatology*. 2014 Oct 9.
144. D'Amico F, Skarmoutsou E, Quaderno G, Malaponte G, La Corte C, Scibilia G, D'Agate G, Scollo P, Fraggetta F, Spandidos DA, Mazzarino MC. Expression and localisation of osteopontin and prominin-1 (CD133) in patients with endometriosis. *Int J Mol Med*. 2013 May;31(5):1011-6.
145. Casals G, Ordi J, Creus M, Fábregues F, Carmona F, Casamitjana R, Balasch J. Osteopontin and alphavbeta3 integrin as markers of endometrial receptivity: the effect of different hormone therapies. *Reprod Biomed Online*. 2010 Sep;21(3):349-59.
146. Ben-Nagi J, Miell J, Mavrellos D, Naftalin J, Lee C, Jurkovic D. Endometrial implantation factors in women with submucous uterine fibroids. *Reprod Biomed Online*. 2010 Nov;21(5):610-5.
147. Quenby S, Anim-Somuah M, Kalumbi C, Farquharson R, Aplin JD. Different types of recurrent miscarriage are associated with varying patterns of adhesion molecule expression in endometrium. *Reprod Biomed Online*. 2007 Feb;14(2):224-34.
148. Apparao, K.B.C., Murray, M.J., Fritz, M.A., et al., 2001. Osteopontin

and its receptor avb3 integrin are coexpressed in the human endometrium during the menstrual cycle but regulated differentially. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86, 4991–5000.

149. Peyghambari F, Salehnia M, Forouzandeh Moghadam M, Rezazadeh Valujerdi M, Hajizadeh E. The correlation between the endometrial integrins and osteopontin expression with pinopodes development in ovariectomized mice in response to exogenous steroids hormones. *Iran Biomed J.* 2010 Jul;14(3):109-19.

150. Haas DM, Ramsey PS. Progesterone for preventing miscarriage. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013 Oct 31;10:CD003511.

151. Sarani SA, Ghaffari-Novin M, Warren MA, Dockery P, Cooke ID. Morphological evidence for the implantation window' in human luminal endometrium. *Hum Reprod.* 1999;14(12): 3101-3106.

152. Nikas G. Cell-surface morphological events relevant to human implantation. *Hum Reprod.* 1999;14(suppl 2):37-44.

153. Lessey BA. The role of the endometrium during embryo implantation. *Hum Reprod.* 2000;15(suppl 6):39-50.

154. Cavagna M, Mantese JC. Biomarkers of endometrial receptivity—a review. *Placenta.* 2003;24(suppl B):S39-47.

155. Bentin-Ley U, Horn T, Sjogren A, Sorensen S, Falck Larsen J, Hamberger L. Ultrastructure of human blastocyst-endometrial interactions in vitro. *J Reprod Fertil.* 2000;120(2):337-350.

156. Bentin-Ley U. Relevance of endometrial pinopodes for human blastocyst implantation. *Hum Reprod.* 2000;15(suppl 6):67-73.

157. Bentin-Ley U, Sjogren A, Nilsson L, Hamberger L, Larsen JF, Horn T. Presence of uterine pinopodes at the embryoendometrial interface during human implantation in vitro. *Hum Reprod.* 1999;14(2):515-520.

158. Novotny R, Malinsky J, Oborna I, Dostal J. Ultrastructure of endometrial surface relief in normal menstrual cycle and after hormonal stimulation. *Acta Univ Palacki Olomuc Fac Med.* 1999;142:47-55.
159. Nikas G, Makrigiannakis A. Endometrial pinopodes and uterine receptivity. *Ann NY Acad Sci* 2003;997:120–3.
160. Elavarasan Subramani, Priyanka Banerjee, Chaitali Dattaray, Debashis Chakrabarty, Baidyanath Chakravarty and Koel Chaudhury. Microscopic imaging of the endometrium for assessment of uterine receptivity in women with latent genital tuberculosis. *Current Microscopy Contributions to Advances in Science and Technology.* 2012;5:186-190.
161. Xu B, Sun X, Li L, Wu L, Zhang A, Feng Y. Pinopodes, leukemia inhibitory factor, integrin- β 3, and mucin-1 expression in the peri-implantation endometrium of women with unexplained recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril.* 2012 Aug;98(2):389-95.
162. Mikołajczyk M, Skrzypczak J, Wirstlein P. No correlation between pinopode formation and LIF MMP2 expression in endometrium during implantation window. *Folia Histochem Cytobiol.* 2011;49(4):615-21.
163. Nikas G, Makrigiannakis A. Endometrial pinopodes and uterine receptivity. *Ann NY Acad Sci* 2003;997:120–3.
164. Quinn C, Ryan E, Claessens EA, et al. The presence of pinopodes in the human endometrium does not delineate the implantation window. *Fertil Steril* 2007;87(5):1015–21.
165. Panda DK, Miao D, Tremblay ML, Sirois J, Farookhi R, Hendy GN, Goltzman D. Targeted ablation of the 25-hydroxyvitamin D1 α -hydroxylase enzyme: evidence for skeletal, reproductive, and immune dysfunction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:7498–7503.

166. Walters MR. Newly identified actions of the vitamin D endocrine system. *Endocr Rev* 1992;13:719–764.
167. Mizwicki MT, Norman AW. The vitamin D sterol-vitamin D receptor ensemble model offers unique insights into both genomic and rapid-response signaling. *Sci Signal* 2009;2:re4.
168. Jensen MB, Nielsen JE, Jørgensen A, Rajpert-De Meyts E, Kristensen DM, Jørgensen N et al (2010) Vitamin D receptor and vitamin D metabolizing enzymes are expressed in the human male reproductive tract. *Hum Reprod* 25(5):1303–1311.
169. Halloran BP, Deluca HF (1980) Effect of vitamin D deficiency on fertility and reproductive capacity in the female rat. *J Nutr* 110(8):1573.
170. Lerchbaum E, Obermayer-Pietsch B. Vitamin D and fertility: a systematic review. *Eur J Endocrinol* 2012; 166:765–778.
171. Lewis S, Lucas RM, Halliday J, et al. D deficiency and pregnancy: from preconception to birth. *Mol Nutr Food Res* 2010; 54:1092–1102.
172. Adams JS, Hewison M. Unexpected actions of vitamin D: new perspectives on the regulation of innate and adaptive immunity. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2008;4:80–90.
173. Arnson Y, Amital H, Shoenfeld Y. Vitamin D and autoimmunity: new aetiological and therapeutic considerations. *Ann Rheum Dis* 2007; 66:1137–1142.
174. Diaz L, Noyola-Martinez N, Barrera D, Hernandez G, Avila E, Halhali A, Larrea F. Calcitriol inhibits TNF-alpha-induced inflammatory cytokines in human trophoblasts. *J Reprod Immunol* 2009;81:17–24.
175. Rudick B, Ingles S, Chung K, Stanczyk F, Paulson R, Bendikson K. Characterizing the influence of vitamin D levels on IVF outcomes. *Hum Reprod* 2012;27:3321–3327.

176. Bodnar LM, Catov JM, Simhan HN, Holick MF, Powers RW, Roberts JM. Maternal vitamin D deficiency increases the risk of preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:3517–3522.
177. Bodnar LM, Krohn MA, Simhan HN. Maternal vitamin D deficiency is associated with bacterial vaginosis in the first trimester of pregnancy. *J Nutr* 2009;139:1157–1161.
178. Maghbooli Z, Hossein-Nezhad A, Karimi F, Shafaei AR, Larijani B. Correlation between vitamin D3 deficiency and insulin resistance in pregnancy. *Diabetes Metab Res Rev* 2008;24:27–32.
179. Ota K, Dambaeva S, Han AR, Beaman K, Gilman-Sachs A, Kwak-Kim J. Vitamin D deficiency may be a risk factor for recurrent pregnancy losses by increasing cellular immunity and autoimmunity. *Hum Reprod*. 2014;29:208-19.
180. Asadi M, Matin N, Frootan M, Mohamadpour J, Qorbani M, Tanha FD. Vitamin D improves endometrial thickness in PCOS women who need intrauterine insemination: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Arch Gynecol Obstet*. 2014 Apr;289(4):865-70.
181. De Jong, Doel F, Falconer A. Outpatient diagnostic hysteroscopy. *Br J Obstet Gynaecol*. 1990 Apr;97(4):299-303.
182. Nagele F, O'Connor H, Davies A, Badawy A, Mohamed H, Magos A. 2500 Outpatient diagnostic hysteroscopies. *Obstet Gynecol*. 1996 Jul;88(1):87-92.
183. Inafuku K. [Hysteroscopy in midluteal phase of human endometrium evaluation of functional aspect of the endometrium]. *Nihon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi*. 1992 Jan;44(1):79-83.
184. Sakumoto T, Inafuku K, Miyara M, Takamiyagi N, Miyake A, Shinkawa T, Nakayama M. Hysteroscopic assessment of midsecretory-phase endometrium, with special reference to the luteal-phase defect. *Horm Res*. 1992;37 Suppl 1:48-52.

185. Masamoto H, Nakama K, Kanazawa K. Hysteroscopic appearance of the mid-secretory endometrium: relationship to early phase pregnancy outcome after implantation. *Hum Reprod.* 2000 Oct;15(10):2112-8.