

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

**FARELERDE LİPOLİSAKKARİT İLE
OLUŞTURULMUŞ PRETERM DOĞUM
MODELİNDE ANTI-MAKROFAJ MİGRASYON
İNİHİTÖR FAKTÖR ANTIKORUNUN
ETKİNLİĞİ**

DR NESİN AKDEMİR

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2010

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

**FARELERDE LİPOLİSAKKARİT İLE
OLUŞTURULMUŞ PRETERM DOĞUM
MODELİNDE ANTI-MAKROFAJ MİGRASYON
İNİHİTÖR FAKTÖR ANTİKORUNUN
ETKİNLİĞİ**

UZMANLIK TEZİ

DR NESİN AKDEMİR

Danışman Öğretim Üyesi: Prof Dr Namık DEMİR

**Bu araştırma DEÜ Araştırma Fon Saymalığı tarafından 2009.KB.SAG.059 numaralı
proje olarak desteklenmiştir.**

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|-----|
| TABLO LİSTESİ..... | II |
| ŞEKİL LİSTESİ..... | III |
| KISALTMALAR..... | IV |
| ÖNSÖZ | V |
| ÖZET..... | 1 |
| SUMMARY..... | 2 |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ..... | 3 |
| 2. GENEL BİLGİLER..... | 5 |
| 2.1 Preterm doğumun tanımı ve insidansı..... | 5 |
| 2.2 Perinatal mortalite ve morbidite..... | 5 |
| 2.3 Preterm doğumun epidemiyolojisi..... | 6 |
| 2.4 Preterm doğum risk faktörleri..... | 6 |
| 2.5 Preterm doğumun patofizyolojisi..... | 8 |
| 2.6 Makrofaj migrasyon inhibitör faktör..... | 16 |
| 2.7 Preterm doğum modelleri..... | 21 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM..... | 22 |
| 4. BULGULAR..... | 26 |
| 5. TARTIŞMA | 35 |
| 6. KAYNAKLAR..... | 40 |

TABLO LİSTESİ

Tablo 4.1: Tüm gruplarda doğuma kadar geçen süre

Tablo 4.2: Tüm gruplarda yavru ağırlıkları

Tablo 4.3: Doğuma kadar geçen süre ve yavru ağırlıklarının gruplar arasında karşılaştırılması

Tablo 4.3: Tüm gruplarda ortalama TNF- α düzeyleri

Tablo 4.4: Tüm gruplarda ortalama IL-6 düzeyleri

Tablo 4.3: Gestasyonel dokularda TNF- α ve IL-6 düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1: İnflamatuar yanıtlar ile preterm doğum gelişimi arasındaki ilişki

Şekil 2.2: Koryodesidual kolonizasyon sonucu preterm doğum gelişiminde öne sürülen patolojik süreçler

Şekil 2.3: İnsan MIF homotrimer yapısı

Şekil 2.4: MIF'in inflammatuar yanıtlar üzerindeki etkisi

Şekil 2.5: İnflamatuar süreçlerde MIF ve GK'ler arasındaki ilişki

Şekil 3.1: Çalışmanın şematik olarak özeti

Şekil 4.1: Doğuma kadar geçen ortalama süre

Şekil 4.2: Ortalama yavru ağırlıkları

Şekil 4.3: Gestasyonel dokularda ortalama TNF- α düzeyleri

Şekil 4.4: Gestasyonel dokularda ortalama IL-6 düzeyleri

KISALTMALAR

- COX:** Siklooksijenaz
COX-1: Siklooksijenaz-1
COX-2: Siklooksijenaz-2
CRF: Kortikotropin releasing faktör
PLA2: Fosfolipaz-A2
GK: Glukokortikoid
iNOS: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
IFN- γ : İnterferon-gama
IL-1 β : İnterlökin-1beta
IL-2: İnterlökin-2
IL-6: İnterlökin-6
IL-8: İnterlökin-8
İP: İntraperitoneal
LPS: Lipopolisakkarit
MIF: Makrofaj migrasyon inhibitör faktör
MMP: Matriks metalloproteinaz
NO: Nitrik oksit
NF κ B: Nükleer faktör kappa-B
PG: Prostaglandin
PGHS: Prostaglandin H sentaz
PGHS-1: Prostaglandin H sentaz-1
PGHS-2: Prostaglandin H sentaz-2
PTGFR: Prostaglandin F2-alfa reseptörü
PGF2 α : Prostaglandin F2-alfa
PGDH: Prostaglandin 15-hidroksi dehidrogenaz
PPROM: Preterm prematür membran rüptürü
TLR-2: Toll-like reseptörleri-2
TLR-4: Toll-like reseptörleri-4
TNF- α : Tümör nekrozis faktör-alfa
UAP: Uterin aktivasyon proteinleri

ÖNSÖZ

Kadın hastalıkları ve doğum uzmanlık eğitimim boyunca, bilgi ve deneyimleri ile bu alanda yetişmemde katkı sahibi olan Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı öğretim üyeleri, Sayın hocalarım; Prof. Dr. Oktay Erten, Prof. Dr. Ata Önvural, Prof. Dr. Berrin Acar, Prof. Dr. Namık Demir, Prof. Dr. Turhan Uslu, Prof. Dr. Bülent Gülekli, Prof. Dr. Cemal Posacı, Prof. Dr. E. Yakup Erata, Prof. Dr. Murat Celiloğlu, Prof. Dr. Uğur Saygılı, Doç. Dr. Sabahattin Altunyurt, Doç. Dr. Serkan Güçlü, Doç. Dr. Ö. Erbil Doğan, Öğr. Gör. Uzm. Dr. H. Bahadır Saatlı, Öğr. Gör. Uzm. Dr. R. Emre Okyay'a ve beraber çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanmasındaki desteklerinden dolayı sayın hocam Prof. Dr. Namık Demir'e, Dr. Nur Buldanlı'ya, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Güldal Kırkalı'ya, Deney Hayvanları Laboratuvarından Öğr. Gör. Uzm. Dr. Efsun Kolatan ve Yunus Karayel'e teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim sırasında yanımda olan annem, babam, eşim ve oğluma teşekkür ederim.

Dr. Nesin Akdemir

ÖZET

Farelerde Lipopolisakkarit ile Oluşturulmuş Preterm Doğum Modelinde

Anti-Makrofaj Migrasyon İnhibitör Faktör Antikorumun Etkinliği

Amaç: Preterm doğum eyleminin başlamasında proinflatuar sitokinlerin önemli olduğu düşünülmekte, maternal veya fetal inflammatuar yanıtın patogeneizde rol oynadığı öne sürülmektedir. Makrofaj migrasyon inhibitör faktör (MIF) proinflatuar mediyatörlerin sentezini arttırarak ve glukokortikoidlerin (GK) antiinflammatuar etkilerini inhibe ederek inflammatuar yanıtları düzenlemektedir. MIF'in özellikle intrauterin enfeksiyon varlığında preterm doğumun başlamasında rol oynayabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada, farelerde lipopolisakkarit (LPS) ile oluşturulmuş preterm doğum modeli üzerinde anti-MIF antikorumun tedavideki etkinliği araştırılmıştır.

Yöntem: Balb/c cinsi gebe farelerde gebeliğin 17. gününde intraperitoneal (IP) olarak verilen LPS ile preterm doğum modeli oluşturuldu. Anti-MIF antikorumun gebelik süresi ve fetus ağırlıkları üzerine etkilerini değerlendirmek üzere birinci deney grubunda LPS ile eş zamanlı ve LPS'den 2 saat önce IP olarak anti-MIF antikoru verildi. Anti-MIF antikorumun gestasyonel dokularda tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α) ve interlökin-6 (IL-6) düzeyleri üzerine etkisini değerlendirmek üzere ikinci deney grubunda LPS uygulamasından 8 saat sonra fareler sakrifiye edilerek gestasyonel doku örnekleri alındı.

Bulgular: LPS den 2 saat önce anti-MIF verilen grupta doğuma kadar geçen süre yalnız LPS verilen gruba göre belirgin olarak daha uzun saptandı ($P=.004$). LPS ile eş zamanlı anti-MIF tedavisinin gebelik süresine etkisinin olmadığı izlendi. LPS ile eş zamanlı ($P= .01$ ve $.025$) ve 2 saat önce ($P= .01$ ve $.006$) anti-MIF verilen gruplarda gestasyonel dokularda TNF- α ve IL-6 düzeyleri belirgin olarak daha düşük bulundu.

Sonuç: Anti-MIF tedavisinin preterm doğumu önlemedeki etkinliğinin ilk kez araştırıldığı bu çalışmada, MIF'in preterm doğum patogenezinde önemli olduğu ve anti-MIF antikorumlarıyla nötralizasyonunun preterm doğumu geciktirebildiği gösterildi.

Anahtar kelimeler: preterm doğum, makrofaj migrasyon inhibitör faktör, lipopolisakkarit

SUMMARY

Evaluation of the Effect of Anti-Macrophage Migration Inhibitory Factor Antibody in a Mouse Model of Lipopolysaccharide-induced Preterm Delivery

Objective: Pro-inflammatory cytokines are considered as important for the onset of preterm labour and maternal and/or fetal inflammatory response is suggested to play a role in the pathophysiology of preterm labour. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) regulates inflammatory responses, inducing the expression of pro-inflammatory mediators and functioning to counterbalance the anti-inflammatory effects of glucocorticoids. MIF may play a role in infection-associated preterm birth. We investigated the preventive effect of anti-MIF antibody on lipopolysaccharide-induced preterm birth in mice.

Method: On day 17 of gestation, Lipopolysaccharide (LPS) was administered intraperitoneally to pregnant Balb/c mice to induce preterm delivery. For the first set of experiments, to investigate the effect of anti-MIF antibody on duration of gestation and fetal weight, dams were treated intraperitoneally with anti-MIF antibody at the same time as LPS treatment, or 2 h before LPS treatment. A second set of experiments was performed to determine the influence of anti-MIF antibody on intrauterine production of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6). The mice were sacrificed 8 h after LPS injection and then samples of gestational tissues were obtained.

Results: The duration of gestation in treatment with anti-MIF antibody before 2 h LPS injection was significantly longer than LPS treated mice ($P=.004$). By contrast, treatment with anti-MIF antibody at the same time as LPS injection had no effect on duration of gestation. TNF- α and IL-6 concentration in gestational tissues was significantly reduced in mice treated with anti-MIF antibody at the same time as LPS treatment ($P= .010$ ve $.025$), or 2 h before LPS treatment ($P= .010$ ve $.006$) compared to LPS alone.

Conclusion: We have demonstrated for the first time that anti-MIF antibody can delay LPS-induced preterm birth in mice. Results from these study suggest that MIF play a role in the pathophysiology of preterm labour.

Key words: preterm birth, macrophage migration inhibitory factor, lipopolysaccharide

Bölüm 1

GİRİŞ VE AMAC

Preterm doğum 37. gebelik haftasından önce doğumun gerçekleşmesi olarak tanımlanmakta ve modern obstetrimin en önemli problemlerinden birini oluşturmaktadır(1). Gelişmiş ülkelerde perinatal morbidite ve mortalitenin en önemli nedeni prematüritedir(2). Tokolitik ajanların kullanıma girmesine rağmen, son 20 yılda preterm doğum tedavisinde çok az ilerleme kaydedilmiştir ve etkin bir tedavi yönteminin olmaması preterm doğum patogenezinin açıklanamamış olmasından kaynaklanmaktadır(3).

Preterm doğumların %25-40'ı intrauterin enfeksiyon ile ilişkilidir(4). Ancak intrauterin enfeksiyon sonucu preterm doğum gelişen olguların büyük kısmında klinik olarak enfeksiyon bulguları izlenmemektedir ve bu olgularda patojenlere karşı gelişmiş maternal veya fetal inflamatuvar yanıtın patogenezde rol oynayabileceği öne sürülmektedir(5). Klinik veya subklinik intrauterin enfeksiyonun yanısıra, alt genital sistem enfeksiyonları ile periodontit, appendisit ve pyelonefrit gibi uzak enfeksiyonların da preterm doğum için artmış risk oluşturması bu görüşü desteklemekte ve enfeksiyon varlığından bağımsız olarak doğum eyleminin başlamasında proinflamatuvar sitokinlerin önemli olabileceğini düşündürmektedir(6).

İntrauterin enfeksiyon bulguları izlenen gebeliklerde amniyotik sıvı, myometrium, desidua, fetal membranlar ve maternal serumda interlökin-1beta (IL-1 β), IL-6, interlökin-8 (IL-8) ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin düzeyleri artmaktadır(4). Gebeliğin son trimesterinde ve doğumda, enfeksiyon bulguları bulunmadığında da gestasyonel dokularda artmış sitokin düzeyleri saptanmıştır(7). Bu sitokinlerin, uterin kontraksiyonların düzenlenmesinde görevli proteinlerin sentezini arttırarak term ve preterm doğum eyleminin başlamasına neden olabileceği öne sürülmektedir(8).

Makrofaj migrasyon inhibitör faktör, sitokin, hormon ve enzim özelliklerine sahip bir proteindir ve inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde kritik öneme sahiptir(9). MIF, direkt olarak proinflamatuvar etki göstererek ve indirekt olarak GK'lerin antiinflamatuvar etkilerini inhibe ederek inflamatuvar yanıtı düzenler(10). Yapılan çalışmalarda, gram pozitif ve negatif sepsis, antijen ile oluşturulmuş artrit, astım, otoimmün ensefalomyelit, diabetes, myokardit, allerjik nörit gibi çok sayıda deneysel hastalık modelinde anti-MIF antikoruyla tedavide belirgin iyileşme sağlanmıştır(11).

Preterm doğum patogenezinde MIF'in rolüne ilişkin yapılan çalışmalarda, erken gebelik haftalarında maternal serumda yüksek MIF düzeylerinin ilerleyen gebelik haftalarında

artmış preterm doğum riski ile birlikte olduğu izlenmiştir(12). Chaiworapongsa ve ark.'nın (13) yaptığı çalışmada ise, erken doğum tehditi olan ve steril amniyotik kavite saptanan hastalarda, preterm doğum gerçekleşen gruptaki amniyotik sıvı MIF düzeylerinin, termde doğum yapan gruba göre daha yüksek olduğu izlenmiştir.

Bu çalışmanın birinci amacı, preterm doğum patogeneğinde MIF'in rolü olduğunu göstermek, ikinci amacı Anti-MIF antikorunun preterm doğumun önlenmesinde etkinliğinin olup olmadığını araştırarak bu olgularda antiinflamatuvar tedavinin yerini belirlemektir.

Bölüm 2

GENEL BİLGİLER

2.1 Preterm doğumun tanımı ve insidansı

Preterm doğum 37. gebelik haftasından önce ve 20. gebelik haftasından sonra doğumun gerçekleşmesi olarak tanımlanmaktadır(1).

Preterm doğum oranları Amerika'da %12-13, Avrupa ve diğer gelişmiş ülkelerde %5-9 olarak bildirilmiştir(14). Patogenez ile ilgili bilgilerin artması, ilişkili risk faktörlerinin daha fazla tanınması ve önleyici halk sağlığı çalışmalarının daha çok uygulanır olmasına karşın, preterm doğum sıklığı Amerika'da 1990 ve 2007 yılları arasında %10.6'dan %12.7'e yükselmiştir(15,16).

Preterm doğum sıklığındaki artışın nedenleri olarak, yardımcı üreme tekniklerinin daha fazla kullanılması, çoğul gebeliklerde artış, 32-34. gebelik haftalarında medikal veya obstetrik komplikasyon varlığında doğumun daha fazla tercih edilmesi, madde kullanımının yaygınlaşması ve düşük sosyoekonomik koşullar gösterilmiştir(17,18).

2.2 Perinatal mortalite ve morbidite

Preterm doğumlar, perinatal mortalitenin yaklaşık %75'inden sorumludur ve bu ölümlerin %30-40'ı 32. gebelik haftasından önceki doğumlarda gerçekleşmektedir(17). Gebelik haftası ve doğum ağırlığı azaldıkça perinatal mortalite riski artmaktadır. Bir yıl içinde infant mortalite oranı 28. gebelik haftasından önceki doğumlarda %41 iken, 28-31. gebelik haftaları arasında bu oran %5, 32-35. gebelik haftaları arasında %1 ve term doğumlarda %0.3 olarak bildirilmiştir(19).

Son yıllarda, preterm infantlarda mortalite oranlarında düşüş sağlanmasına karşın kısa ve uzun dönemde ortaya çıkan morbiditelerin sıklığında artış kaydedilmiştir(17). Mortalite ve morbiditelerin gebelik haftalarına göre gelişme sıklığı neonatal bakım koşullarının düzeyine göre merkezler arasında değişkenlik göstermektedir. 32-36. gebelik haftalarında doğan geç preterm infantlarda respiratuar distres, apne, hipoglisemi, nöbet, sarılık, kernikterus, beslenme güçlüğü ve periventriküler lökomalazi gelişme riski term infantlara göre daha yüksektir ve bu infantların yaklaşık üçte birinde okul yıllarında motor ve kognitif işlevlerin gelişiminde güçlük olduğu bildirilmiştir(20). Otuzikinci gebelik haftasından önce doğan infantlarda ise

serebral palsy, mental retardasyon, görsel-işitsel bozukluklar, bronkopulmoner displazi, nekrotizan enterokolit, prematüre retinopatisi sık görülen morbiditeleri oluşturmaktadır(20,21).

2.3 Preterm doğumun epidemiyolojisi

Preterm doğumların yaklaşık %5'i 28. gebelik haftasından önce, %15'i 28-31. gebelik haftaları arasında, %20'si 32-33. gebelik haftalarında ve %60-70'i 34-36. gebelik haftalarında gerçekleşmektedir(15).

Preterm doğuma neden olan klinik durumlar iki grup altında toplanmıştır. Gebeliğin devamının anne veya fetus açısından risk oluşturduğu durumlarda preterm doğumun gerçekleştirilmesi, endike preterm doğum olarak tanımlanmakta ve tüm preterm doğumların yaklaşık %25'ini (%18.7–35.2) oluşturmaktadır(22). Bu gruptaki nedenler arasında %40 oranında preeklampsi, %25 fetal distress, %10 intrauterin gelişme geriliği, %7 plasental ablasyo ve %7 oranında fetal ölüm bulunmaktadır(23).

Maternal veya fetal risk oluşturan klinik durumlar olmaksızın, preterm prematür membran rüptürü (PPROM) sonrası veya membranlar intakt iken preterm doğum eyleminin gerçekleşmesi spontan preterm doğum olarak tanımlanmakta ve tüm preterm doğumların %75'ini oluşturmaktadır(15).

2.4 Preterm doğum risk faktörleri

2.4.1 Maternal demografik özellikler

Preterm doğum oranı, siyah ırkta beyaz ırka göre iki kat daha yüksektir. Bu farklılığın sosyoekonomik durumdan bağımsız olarak, biyolojik özellikler ile ilişkili olduğu düşünülmekte, genetik polimorfizm nedeniyle konağın mikrobiyal kolonizasyona inflamatuvar yanıtındaki farklılıkların rol oynadığı öne sürülmektedir(24,25).

Düşük sosyoekonomik durum ve eğitim düzeyi artmış preterm doğum riski ile birliktedir(15). Malnütrisyon, sigara ve kokain gibi madde kötüye kullanımı, yetersiz antenatal bakım, yüksek genital sistem enfeksiyonları insidansı, fiziksel olarak ağır işlerde çalışma ve olumsuz psikososyal faktörler bu birlikteliğin olası nedenleri olarak sıralanmaktadır(17,22). Ancak sosyal destek programları ile preterm doğum oranını azaltmaya

yönelik çalışmalarda preterm doğum sıklığında ve perinatal sonuçlarda farklılık izlenmemiştir(17).

Tiroid hastalıkları, astım, anemi, diyabet ve hipertansiyon gibi maternal sistemik hastalıkların varlığında preterm doğum riski artmaktadır(26). Gebelik öncesi düşük beden kitle indeksi artmış preterm doğum riski ile birlikte iken obez hastalarda bu ilişki net değildir(27). Gebelikleri arasındaki süre 6 aydan kısa olan hastalarda preterm doğum riskinin yaklaşık 2 kat arttığı saptanmıştır(15).

2.4.2 Önceki gebelik öyküsü

Preterm doğum öyküsü varlığında sonraki gebeliklerde rekürrens riski, preterm doğumların sayısına ve haftasına göre değişmekle birlikte %15-50 arasında bildirilmiştir(15,28). Önceki gebeliklerde doğum haftası azaldıkça ve preterm doğum sayısı arttıkça tekrarlama riski yükselmektedir. Mercer ve ark.'nın (28) yaptığı çalışmada, preterm doğum öyküsü olan hastalarda 37 haftanın altında doğum riski 2.5 kat, 28 haftanın altında doğum riski 10.6 kat artmış bulunmuştur. Spontan preterm doğumların rekürrensinde, kronik veya tekrarlayan intrauterin enfeksiyonların, endike preterm doğumlarda ise diyabet, hipertansiyon gibi sıklıkla sonraki gebeliklerde de persiste eden hastalıkların rol oynadığı ileri sürülmüştür(29).

2.4.3 Gebelik özellikleri

Çoğul gebelikler tüm preterm doğumların %12-27'sini oluşturmaktadır(30,31). İkiz gebeliklerin yaklaşık %40'ında spontan doğum eyleminin başlaması veya PPROM sonrası preterm doğum gelişirken, %20'sinde preeklampsi gibi doğumun endike olduğu diğer maternal-fetal hastalıklar preterm doğuma yol açmaktadır(15). Çoğul gebeliklerde yüksek preterm doğum riskinin nedenleri olarak artmış uterin distansiyon ve fetustan doğumu başlatan uyarıların varlığı öne sürülmüştür ancak ikiz gebeliklerin yaklaşık yarısında doğumun 37. gebelik haftasından sonra gerçekleşmesi, bu hastalarda preterm doğuma neden olabilecek diğer risk faktörlerinin de eşlik ettiğini düşündürmektedir(30,32).

Preterm doğum, yardımcı üreme teknikleri ile sağlanmış tekil gebeliklerde spontan tekil gebeliklere göre yaklaşık iki kat daha sık izlenmektedir(33). Pelvik cerrahi girişimler, implantasyon ile ilgili bozukluklar, üst genital sistemin mikrobiyal kolonizasyonu, uterin malformasyonlar gibi infertilite ile ilişkili diğer faktörlerin varlığı ve artmış doğum defektleri

oranı bu risk artışının nedenleri olarak öne sürülmüştür(34). Yardımcı üreme teknikleri sonrası multipl gebeliklerde preterm doğum oranı, spontan ikiz gebelikler ile farklılık göstermemektedir(35).

Preterm doğum riski uterin malformasyon varlığında %25-50 arasında bildirilmiştir(36). Uterin anomalilerde izlenen, azalmış uterin kavite genişliği, anormal myometriyal ve servikal fonksiyon, yetersiz vaskülarite ve anormal endometriyal gelişim artmış preterm doğum riskine yol açan nedenler olarak sıralanmaktadır(37).

Plasenta previa, plasental ablasyo ve nedeni açıklanamayan birinci ve ikinci trimester vaginal kanamalarında preterm doğum riski belirgin olarak artmaktadır(38,39). Yüksek maternal serum alfa-fetoprotein düzeyleri, yapısal fetal anomali olmadığında, artmış preterm doğum riski ile birliktedir(40). İkinci ve üçüncü trimesterde maternal abdominal cerrahinin uterin kontraksiyonlara neden olarak preterm doğuma yol açabileceği bilinmektedir(15).

Sistemik ve genital sistem enfeksiyonları preterm doğum riskini belirgin olarak arttırmaktadır(6). Gebelik haftası azaldıkça klinik ve histolojik olarak enfeksiyon bulguları daha sık izlenmektedir. Özellikle 30. gebelik haftasından önce gelişen preterm doğumların %70'i intrauterin enfeksiyon ile ilişkili bulunurken, 30. gebelik haftasından sonraki olgularda bu ilişkinin %30-40 oranında olduğu gösterilmiştir(41). Çok sayıda farklı mikroorganizma preterm doğum etyolojisinde rol oynamaktadır. Genital mikoplazma (Ureaplasma urealyticum ve Mycoplasma hominis); anaeroblar; Trichomonas vaginalis; grup B streptokoklar; Gardnerella vaginalis; Escherichia coli gibi gram negatif rodlar en sık izole edilen mikroorganizmalardır(42). Genital sistem dışında, pnömoni, pyelonefrit, appendisit ve periodontal enfeksiyonların da preterm doğum riskini arttırdığı gösterilmiştir(42).

2.5 Preterm doğumun patofizyolojisi

Uterin kontraksiyonlarda artış, servikal olgunlaşma, desidua ve membranların aktivasyonu süreçleri, term ve preterm doğumdaki ortak fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikleri oluşturmaktadır. Ancak preterm doğumda term doğumdan farklı olarak, patolojik uyarıların bu süreçlerden bir veya daha fazlasını aktive ettiği düşünülmektedir(43).

Bu patolojik uyarıların;

- a) İntrauterin enfeksiyon veya enflamasyon
- b) Uteroplasental iskemi
- c) Uterusun aşırı distansiyonu
- d) Anormal allograft reaksiyonu

- e) Allerji benzeri reaksiyon
- f) Servikal yetmezlik
- g) Hormonal bozukluklar

olarak sınıflandırılmıştır.

2.5.1 İntrauterin enfeksiyon veya enflamasyon

İntrauterin enfeksiyon, preterm doğum ile ilişkisi kesin olarak gösterilmiş ve moleküler patofizyolojisi tanımlanmış tek patolojik uyarandır(43).

Bu görüşü destekleyen bulgular;

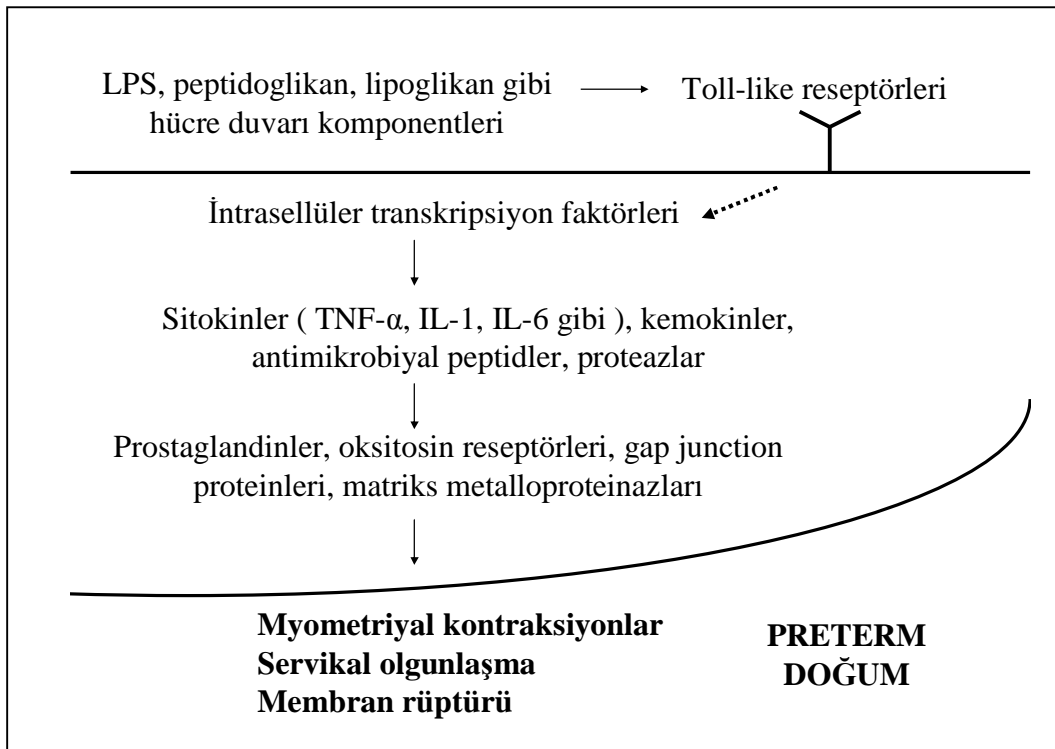
- Gebe hayvanlarla yapılan çalışmalarda, intrauterin enfeksiyon sonucu veya mikrobiyal ürünlerin sistemik olarak verilmesi ile preterm doğum gelişmektedir(44).
- Pyelonefrit, pnömoni ve periodontal hastalıklar gibi ekstrauterin enfeksiyonlar preterm doğuma neden olabilmektedir(42).
- Subklinik intrauterin enfeksiyonlar preterm doğum ile ilişkilidir(45).
- Mid-trimesterde amniyotik sıvıda enfeksiyon veya artmış sitokin düzeyleri saptanan hastalarda preterm doğum riskinin arttığı gösterilmiştir(43).
- Deneysel koryoamniyonit modellerinde antibiyotik tedavisi ile preterm doğumun önlenildiği saptanmıştır(46).

İntrauterin enfeksiyon ile preterm doğum arasındaki ilişkiyi gösteren yapılmış ilk çalışmada, yaklaşık 7500 plasentanın patolojik incelemesinde tüm plasentaların %5'inde histolojik koryoamniyonit saptanırken 21-24. gebelik haftasında doğan infantların plasental örneklerinin %94'ünde histolojik koryoamniyonit saptanmıştır(47). Plasental örneklerinde koryoamniyonit saptanan olguların yalnızca %13.8'inde klinik olarak enfeksiyon bulguları izlenirken, hastaların büyük bir kısmında enfeksiyonun subklinik olduğu gösterilmiştir. Hillier ve ark.'nın (48) yaptığı çalışmada da, histolojik koryoamniyonit varlığı veya plasental ve fetal membranlarda bakteri izole edilmesinin preterm doğum ile ilişkili olduğu ancak iki bulgunun birlikte izlendiği olgularda bu ilişkinin daha güçlü olduğu gösterilmiştir.

Mikroorganizmalar amniyotik kaviteye;1) en sık olarak vagina ve serviksten asendan yolla, 2) plasental geçişe neden olan hematogen yayılım ile 3) peritoneal kaviteden fallopian tüpleri aracılığıyla retrograd olarak 4) amniyosentez, kordosentez gibi invaziv girişimler sırasında iyatrojenik olarak ulaşabilmektedir(42).

Doku hasarlanmasına temel olarak amniyotik kaviteye ulaşan mikroorganizmaların ölümü ile ortaya çıkan LPS, peptidoglikan, ve lipoglikan gibi hücre duvarı komponentleri

neden olmaktadır(43). Bu ürünlerin, konak hücrelerde transmembran yerleşimli Toll-like reseptörleri (TLR) aracılığıyla tanınması inflamatuvar yanıtları başlatmaktadır(44). TLR ligasyonu, transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör kappa-B'nin (NFκB) aktivasyonuna neden olarak sitokinlerin, kemokinlerin ve antimikrobiyal peptidlerin üretimini stimüle etmektedir(44). İnsanda amniyotik epitelde TLR-2 ve TLR-4 ekspresyonu varlığı gösterilmiştir(49). Buna ek olarak, histolojik olarak koryoamniyonit bulguları olan term veya preterm spontan doğum eylemindeki hastaların amniyotik membranlarında artmış TLR-2 ve TLR-4 ekspresyonu olduğu izlenmiştir(49).



Şekil 2.1: İnflamatuvar yanıtlar ile preterm doğum gelişimi arasındaki ilişki

2.5.1.1 Term ve preterm doğum patogeneğinde sitokinlerin önemi

Term ve preterm doğum mekanizmasında sitokinlerin merkezi bir rol oynadığı düşünülmektedir(43). Gebeliğin geç dönemlerinde, intrauterin dokularda nötrofil ve makrofaj konsantrasyonunun en yüksek düzeye ulaştığı ve bu hücrelerde proinflamatuvar sitokinlerin mRNA ekspresyonunun belirgin olarak arttığı gösterilmiştir(50). IL-1 β , IL-6 ve TNF- α ,

bakteriyel ürünlere yanıt olarak başlıca makrofajlar tarafından sentezlenen uterin proinflatuar sitokinlerdir(8).

İnterlökin-1beta, 33 kDa protein yapıda sentezlenerek caspase enzimleri ile 17 kDa'luk aktif formuna dönüştürülür(51). IL-1 β 'nın insanda amniyon ve desiduada prostaglandin (PG) üretimini stimüle ettiği gösterilmiştir(52). Preterm doğum eyleminde olan ve intraamniyotik enfeksiyonu bulunan hastaların amniyon sıvısında artmış IL-1 β konsantrasyonu izlenmiştir(53). Gebe hayvanlara IL-1 β verilmesi preterm doğum ile sonuçlanmaktadır(54).

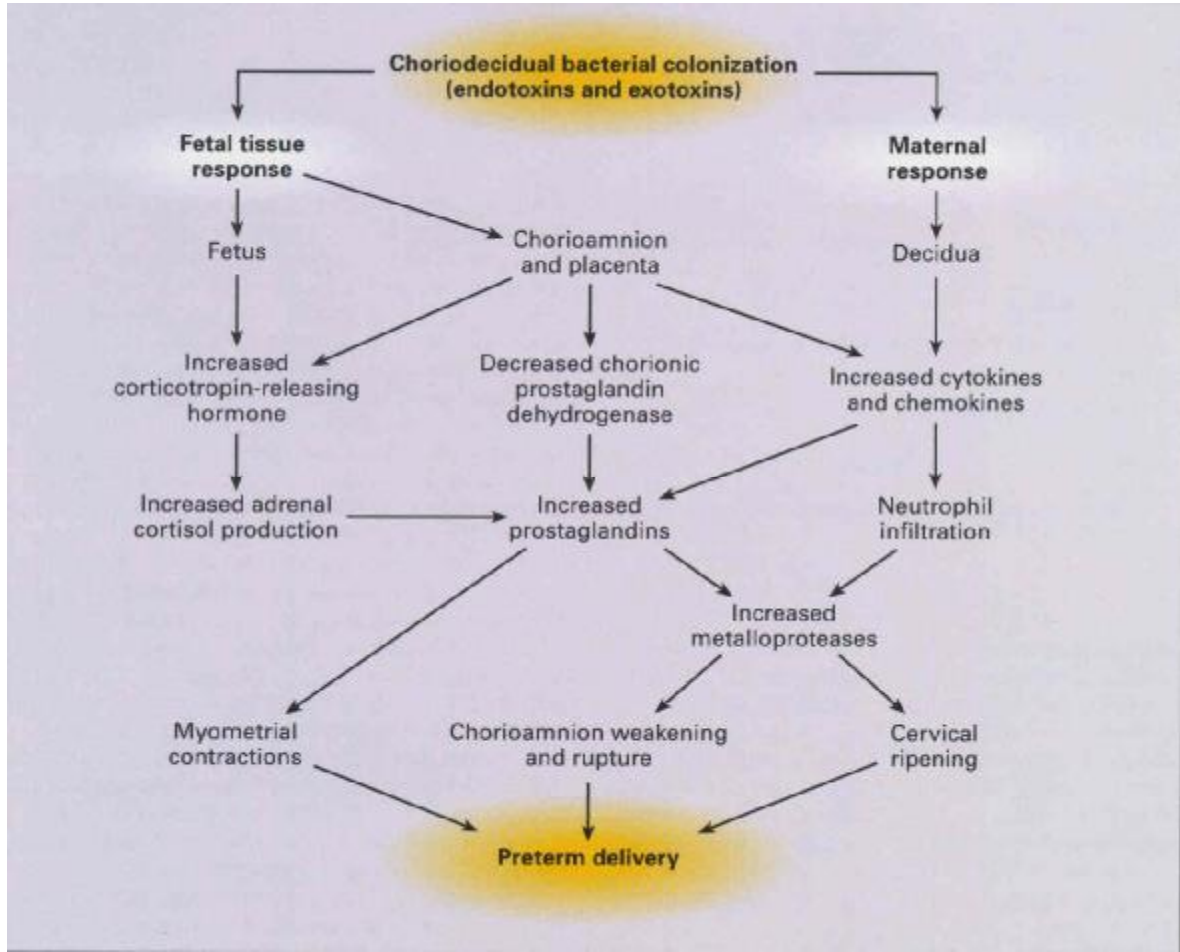
Tümör nekrozis faktör-alfa, 26 kDa protein yapıda sentezlendikten sonra TNF- α converting enzim ile 17 kDa'luk aktif formuna dönüştürülür(55). TNF- α 'nın amniyon, desidua ve myometriyumda PG üretimini arttırdığı gösterilmiştir(56). Preterm doğum eyleminde ve intraamniyotik enfeksiyonu olan hastalarda amniyotik sıvı TNF- α düzeylerinin yüksek olduğu gösterilmiştir(57). İntraamniyotik enfeksiyon saptanan PPRM'lu hastalarda TNF- α düzeylerinin doğum eylemi varlığında daha yüksek olduğu izlenmiştir(57). TNF- α 'nın matriks metalloproteinaz (MMP) üretimini stimüle ederek membran rüptürü ve servikal olgunlaşmada rol oynadığı düşünülmektedir(58).

İnterlökin-6, 26 kDa'luk protein yapıda immünmodülatör görevi olan bir sitokindir(5,8). İnflamasyonda akut faz yanıtını düzenlediği, T ve B lenfositlerinin matürasyonunu ve PG üretimini arttırdığı gösterilmiştir(5). Term ve preterm doğum eyleminde amniyotik sıvıda, IL-1 β ve TNF- α ile birlikte IL-6 düzeylerinin yüksek olduğu bulunmuştur(59). IL-6'nın enfeksiyon ile ilişkili preterm doğum eyleminin en sensitif ve spesifik göstergesi olduğu belirtilmektedir(3).

2.5.1.2 Sitokinlerin PG'ler ve uterin aktivasyon üzerine etkisi

Oksitosin reseptörü, prostaglandin H sentaz-2 (PGHS-2), gap junction proteini olan connexin-43 ve prostaglandin F2-alfa reseptörü (PTGFR) uterusun doğuma hazırlanmasında görevli olan uterin aktivasyon proteinleri (UAP) olarak tanımlanmaktadır(8). Proinflatuar sitokinlerin, UAP'lerin ekspresyonunu düzenleyerek term ve preterm doğumun başlamasına neden olduğu ileri sürülmüştür(8).

Prostaglandinler, gebelikte myometriyum ve intrauterin dokular tarafından üretilmekte ve daha çok myometriyal kontraktilitede olmak üzere, membranların rüptürü, servikal olgunlaşma, plasental ayrılma ve uterin involusyon gibi doğum sürecinde gerçekleşen fizyolojik olayların tümünde rol oynamaktadır(60).



Şekil 2.2: Koryodesidual kolonizasyon sonucu preterm doğum gelişiminde öne sürülen patolojik süreçler (Goldenberg, 2000).

En güçlü uterin kontraktıl prostanaid, prostaglandin F₂-alfa'dır (PGF₂α) ve spesifik reseptörü PTGFR üzerinden etkisini gösterir(60). İnsanlarda ve kemirgenlerde, myometriyal PTFGR mRNA'nın term ve preterm doğumlarda arttığı, PTFGR'nin gebeliğin devamı ve doğumda merkezi bir rol oynadığı gösterilmiştir(61,62).

Prostaglandin sentezi, PGHS enzimi tarafından araşidonik asidin endoperokside dönüştürüldüğü basamakta düzenlenmektedir(60). PGHS enziminin iki izoformu bulunmaktadır; PGHS-1 birçok dokuda bulunmasına ve yapısal PG sentezini sağlamasına karşın PGHS-2, enzimin indüklenebilir izoformudur. Doğum eylemi sırasında artmış olan PG üretiminden PGHS-2 sorumludur(63).

Sitokinler, PG sentezini birçok farklı basamakta düzenlemektedir. Bu etkilerini PG sentezini sağlayan PGHS-2 ekspresyonunu arttırarak, PG'lerin inaktif metabolitlerine çevrilmesine neden olan prostaglandin 15-hidroksi dehidrogenaz (PGDH) enziminin

ekspresyonunu azaltarak ve PTFGR ekspresyonunu arttırarak gösterdiği düşünülmektedir(64-67).

2.5.2 Uteroplasental iskemi

Plasental dokularda inflamasyon bulguları olmayan preterm doğum olgularında en sık izlenen patolojik bulgu maternal ve fetal vasküler lezyonlardır(43). Maternal vasküler lezyonların uteroplasental iskemiyeye neden olarak preterm doğum gelişiminde rol oynayabileceği öne sürülmüştür.

Bu görüşü destekleyen bulgular;

- Deneysel preeklampsi modellerinde uterin iskeminin preterm doğuma neden olduğu izlenmiştir(43).
- Plasental vasküler lezyonları olan hastalarda, membranların intakt olduğu preterm doğum riski 3.8 kat ve PPRM gelişimi 4 kat artmış bulunmuştur(68).
- İlk trimesterde retroplasental hematoma saptanan hastalarda preterm doğum ve intrauterin gelişme geriliği riski artmaktadır(69).

Uteroplasental iskemi ile preterm doğum arasındaki ilişkinin patogenezi net olarak belirlenmemiştir. Ancak uteroplasental iskemi nedeniyle desidual nekroz ve hemoraji gelişiminin trombin üzerinden doğumu başlatabileceği öne sürülmüştür(43). Yapılan çalışmalarda, trombinin doz bağımlı olarak myometriyal kontraktiletiyi stimüle ettiği ve ikinci trimesterde yüksek plazma trombin/antitrombin komplekslerinin artmış preterm doğum riski ile birlikte olduğu gösterilmiştir(70,71).

2.5.3 Uterusun aşırı distansiyonu

Müllerian kanal anormallikleri ve multipl gebelikler artmış preterm doğum riski ile birlikte(30,36). Gebelik süresince progesteron ve nitrik oksit (NO) gibi endojen myometriyal relaksanların etkisi ile intraamniyotik basınç sabit tutulmaktadır ancak uterin gerilmenin myometriyal kontraktiletiyi arttırdığı, PG salgılamasına neden olduğu, gap junction proteinlerinin ekspresyonunu stimüle ettiği ve oksitosin reseptör sayısını arttırdığı gösterilmiştir(43). İn vitro çalışmalarda, membranların gerilmesi ile amniyon hücrelerinde kollajenaz aktivitesinde, IL-8 ve PG üretiminde artış olduğu izlenmiştir(72,73). IL-8, MMP-1, PG'ler ve NO'nun servikal olgunlaşmanın kontrolünde rol oynadığı gösterilmiştir(74,75).

2.5.4 Anormal allograft reaksiyonu

Fetal antijenlerin tanınması ve adaptasyonu süreçlerinde gelişen anormalliklerin tekrarlayan gebelik kayıpları, intrauterin gelişme geriliği ve preeklampsi gelişiminde önemli olabileceği öne sürülmüştür(43). Plasental rejeksiyonu gösteren kronik villitis lezyonlarının bazı preterm doğum olgularında izlenmesi ve renal transplant hastalarında rejeksiyonun erken bir bulgusu olan artmış plazma interlökin-2 (IL-2) reseptör konsantrasyonunun preterm doğum eyleminde olan hastalarda da izlenmesi bu görüşü desteklemektedir(43). Ancak bu konuda daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır.

2.5.5 Allerji benzeri reaksiyon

Preterm doğum etyolojisinde immunolojik olarak düzenlenen allerjik mekanizmaların rol oynayabileceği öne sürülmüştür. Uterusun allerjik reaksiyonlarda görev alan mast hücrelerinden zengin olduğu ve bu hücrelerden salınan histamin ve PG gibi ürünlerin myometriyal kontraktileteye neden olduğu gösterilmiştir(76). Bazı preterm doğum olgularında amniyotik sıvıda eozinofil hücrelerinin daha yüksek sayıda olduğu izlenmiş, bu bulgunun allerji benzeri yanıtın göstergesi olduğu ileri sürülmüştür(43). Gebe hayvanlara sensitize ovoalbumin verilmesinin preterm doğuma neden olduğu ve antihistaminik tedavisi ile bu durumun önlenildiği gösterilmiştir(77).

2.5.6 Servikal hastalıklar

Servikal hastalıklar başlığı altında, tekrarlayan mid-trimester abortusları, uterin kontraktilitenin veya membran rüptürünün eşlik etmediği bazı preterm doğum olguları ve term doğum eyleminin hızlı ilerlediği hastalar bulunmaktadır(43). Servikal hastalıklar hipoplastik serviks gibi konjenital nedenlere bağlı gelişebileceği gibi, geniş bağ dokusu kaybına neden olan konizasyon gibi cerrahi travmalar sonrası veya tekrarlayan servikal dilatasyonlar gibi serviksin yapısal bütünlüğünü bozan travmatik hasarlanmaya bağlı olarak da gelişebilmektedir(78). Ancak mid-trimesterde servikal yetmezlik saptanan bazı hastalarda, primer servikal hastalık olmadan prematür servikal olgunlaşmanın izlenmesi, bu olgularda intrauterin enfeksiyon gibi farklı patolojik süreçlerin rol oynayabileceğini düşündürmektedir(79). Akut servikal yetmezlik gelişen hastaların yaklaşık %50'sinde intrauterin enfeksiyonun gösterilmesi bu görüşü desteklemektedir(79)..

2.5.7 Hormonal bozukluklar

Progesteron gebeliğin devamında merkezi bir öneme sahiptir(80). Yapılan çalışmalarda, progesteronun oksitosin reseptörleri ve gap junction proteinlerinin ekspresyonunu azaltarak myometriyal kontraksiyonları baskıladığı gösterilmiştir(81). Progesteronun bu etkilerine karşın östrojen ise myometriyal kontraktileti arttırmakta ve servikal olgunlaşmayı başlatmaktadır(82).

Birçok hayvan türünde spontan doğum eyleminin başlamasından önce maternal serum progesteron düzeylerinde azalma olduğu gösterilse de insan ve insan dışı primatlarda böyle bir bulgu saptanmamıştır(81). Ancak insanlarda ve insan dışı primatlarda RU-486 (Mifepriston) ve ZK 98299 (onapriston) gibi progesteron reseptör antagonistlerinin verilmesi ile doğum eylemi başlatılabilmektedir(81).

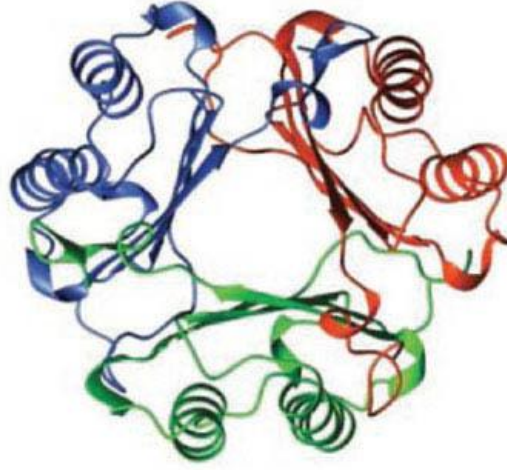
Deneysel hayvan modellerinde intrauterin enfeksiyonun serum progesteron düzeylerinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir(83). İntrauterin enfeksiyon varlığında, proinflatuar sitokinlerin gestasyonel dokularda NF-κB'yi stimüle ederek PG üretiminde artışa ve progesteron aktivitesinde baskılanmaya neden olabileceği, böylece fonksiyonel progesteron çekilmesi ile sonuçlanabileceği öne sürülmüştür(84). Randomize kontrollü çalışmalarda preterm doğum öyküsü olan hastalarda progesteron tedavisinin spontan preterm doğum oranını azalttığı gösterilmiştir. Ancak progesteronun bu etkisinin hangi mekanizma ile ortaya çıktığı bilinmemektedir(85,86).

Gebelikte endojen veya ekzojen kaynaklı maternal stres preterm doğum için risk faktörüdür(87). Maternal plazma kortikotropin releasing faktör (CRF) düzeyi term ve preterm doğum eyleminde yükselmektedir(87). Mid-trimesterde yüksek plazma CRF konsantrasyonları olan hastalarda preterm doğum riskinin arttığı saptanmıştır(88). CRF ile doğum eylemi arasındaki ilişki net olarak bilinmemektedir ancak kortizol ve PG üretimi üzerindeki etkileri sonucunda gerçekleştiği düşünülmektedir(87).

2.6 Makrofaj migrasyon inhibitör faktör

Makrofaj migrasyon inhibitör faktör, sitokin, hormon ve enzim özelliklerine sahip moleküler ağırlığı 12.5 kDa olan, 115 aminoasid'den oluşan bir proteindir(9).

İlk olarak 1966 yılında T lenfositlerden salınan ve in vitro ortamda makrofajların random hareketini inhibe eden bir mediyatör olarak tanımlanmıştır(89). Daha sonra yapılan in vivo çalışmalarda tuberküline bağlı gecikmiş tipte hipersensitivite reaksiyonu sırasında inflame dokularda makrofaj retansiyonunu sağladığı ve inflamasyon alanındaki endotelial hücrelerde P-selektin ekspresyonunu arttırarak makrofaj transmigrasyonunu hızlandırdığı gösterilmiştir(90).

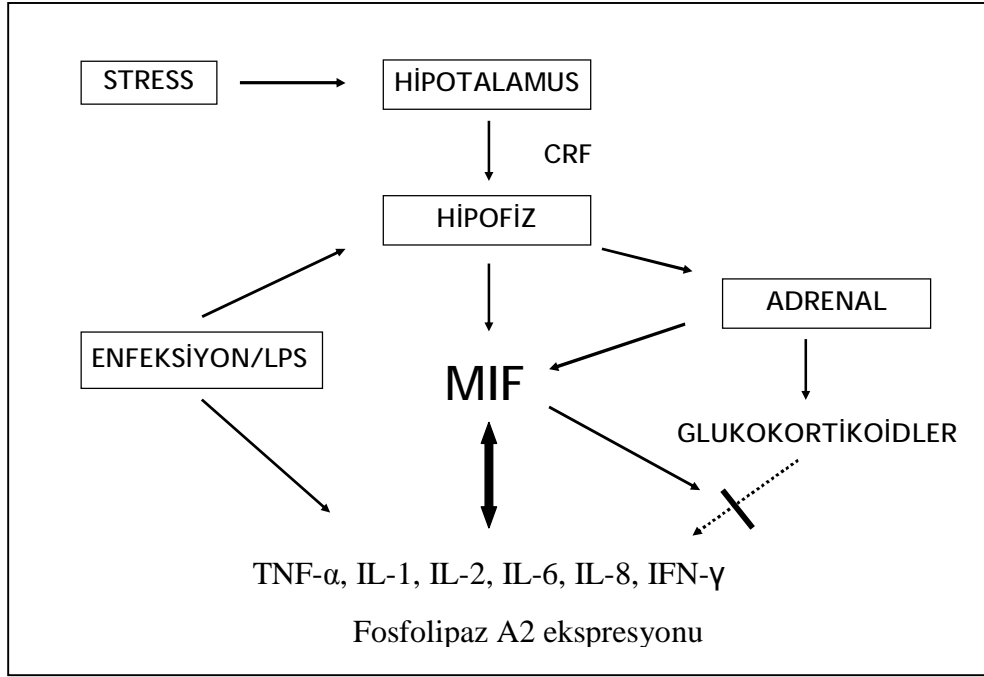


Şekil 2.3: İnsan MIF homotrimer yapısı (Baugh, 2002).

Makrofaj migrasyon inhibitör faktör, T ve B lenfositler, monosit ve makrofajlar, kan dendritik hücreleri, eozinofiller, nötrofiller, mast hücreleri gibi çok sayıda immün yanıtta görevli hücre ve birçok organın epitelyal hücreleri, pankreatik β hücreleri, anterior hipofiz, kardiyak myositler, karaciğer, beyin ve böbreklerdeki parankimal hücreler tarafından üretilmektedir(11).

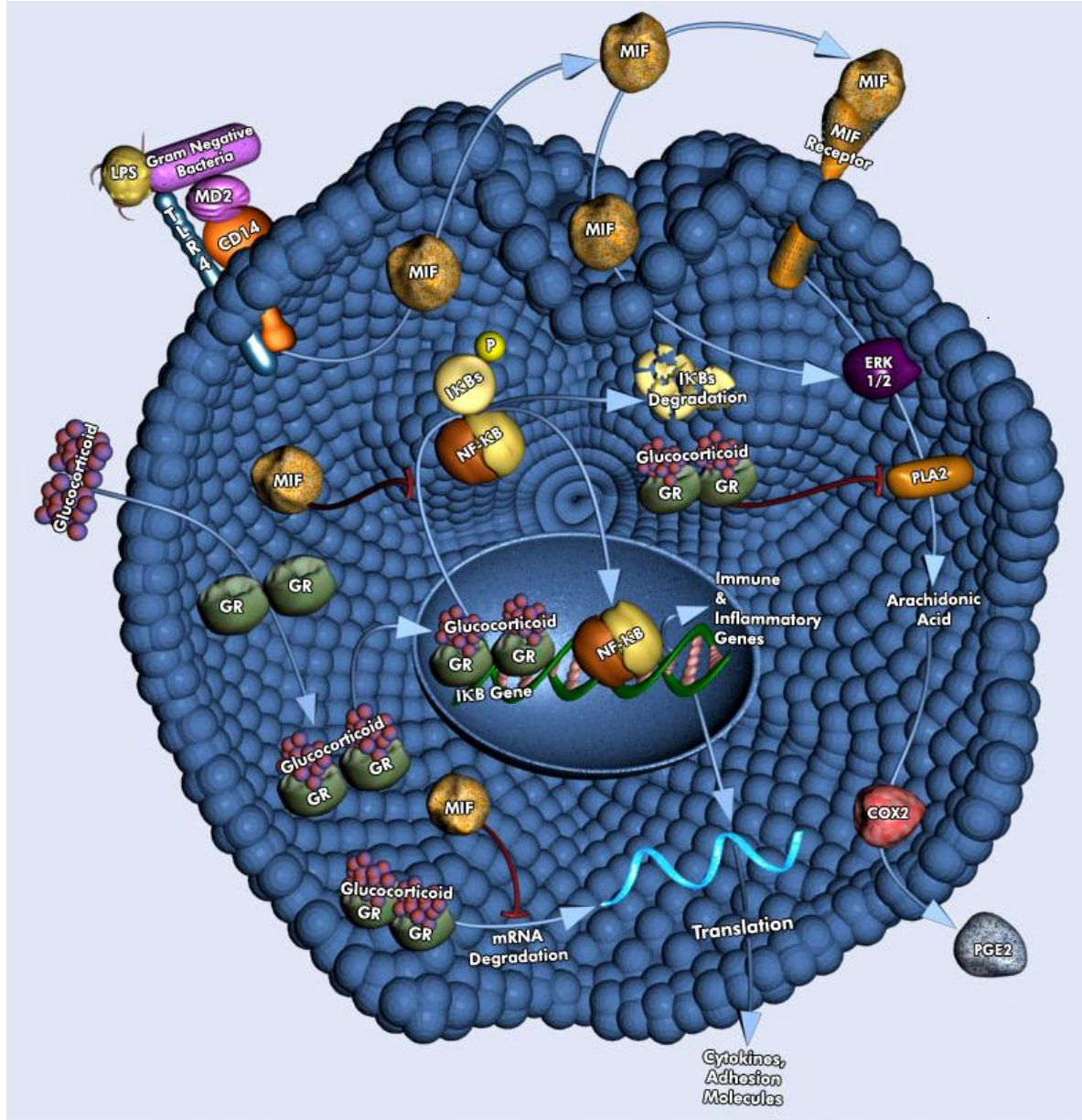
Makrofaj migrasyon inhibitör faktör, bakteriyel komponentlere, TNF- α , interferon-gama (IFN- γ), ve CRF'ye yanıt olarak anterior hipofizden ve monositlerden salınır(91). Makrofajlardan TNF- α , IL-8 gibi proinflamatuvar sitokinlerin ve mediyatörlerin salınımını uyarır ve makrofaj aktivasyonuna neden olarak intrasellüler bakterilerin öldürülmesini başlatır(92,93). T hücrelerinde proliferasyonu, IL-2 ve IFN- γ üretimini stimüle eder(94). CD8 lenfositlerin sitotoksik yanıtlarını ve B hücrelerinin antikor üretimini düzenler(95). MIF,

sitokin genlerinin transkripsiyonel ve posttranskripsiyonel ekspresyonlarını etkileyerek GK'lerin antiinflamatuvar ve immüsupressif etkilerinin fizyolojik düzenleyicisi olarak davranmaktadır(96).



Şekil 2.4: MIF'in inflamatuvar yanıtlar üzerindeki etkisi. Enfeksiyona veya strese yanıt olarak anterior hipofiz hücrelerinden ve makrofajlardan salınan MIF, GK'lerin antiinflamatuvar etkilerini baskılamakta ve proinflamatuvar sitokinlerin sentezine neden olmaktadır.

İnflamatuvar barsak hastalıkları, sepsis, kontakt hipersensitivite, deneysel otoimmün ensefalomyelit, astım ve allerjik rinit gibi inflamatuvar ve otoimmün hastalıklarda MIF'in rolüne ilişkin yapılan hayvan çalışmalarında, MIF yokluğunda inflamatuvar yanıtta belirgin azalma olduğu izlenmiştir(11). Yapılan klinik çalışmalarda, şiddetli sepsis, Crohn hastalığı, ülseratif kolit, akut pankreatit, romatoid artrit, tip 2 diyabet, Guillain Barre sendromu veya multipl skleroz bulunan hastalarda artmış plazma ve serum MIF düzeyleri gösterilmiştir(11,89). Buna ek olarak, aterosklerozis, ülseratif kolit, glomerülonefrit ve psoriasisli hastaların etkilenmiş dokularında artmış MIF düzeyleri izlenmiştir(9,89).



Şekil 2.5: İnflamatuvar süreçlerde MIF ve GK'ler arasındaki ilişki. MIF, GK'lere, proinflamatuvar uyarılara ve mitojenlere yanıt olarak salınır ve GK'lerin inflamatuvar yanıtlar üzerindeki etkisinin fizyolojik düzenleyicisidir. MIF; a) bakteriyel yapıların tanınmasını sağlayarak sitokin salınımına neden olan TLR-4 ekspresyonunu artırır b) fosfolipaz-A2'yi (PLA2) aktive ederek araşidonic asit ve PG'lerin sentezine neden olur. Aktive olmuş GK reseptörleri; a) NFκB gibi transkripsiyon faktörlerinin etkilerini antagonize eder b) sitokinlerin indüklediği sitoplazmik PLA2 aktivitesini ve araşidonic asit salınımını baskılar.

2.6.1 MIF'in reproduktif fizyolojide önemi

Yapılan çalışmalarda MIF'in reproduktif organlarda eksprese edildiği ve çok sayıda fizyolojik ve patolojik durumda rol oynadığı gösterilmiştir. İlk kez 1966 yılında Suzuki ve ark. (97) tarafından murin over, tuba ve uterusunda MIF mRNA'sı tanımlanmıştır.

İnsanlarda 1997 yılında over dokusunda MIF mRNA'nın, folliküler sıvı ve granülosa hücrelerinde MIF proteininin varlığı gösterilmiş, oosit gelişiminde rol oynayan immunolojik süreçler üzerinde MIF'in önemli olduğu öne sürülmüştür(98). Overde MIF'in biyolojik fonksiyonlarını inceleyen çalışmalarda, Anti-MIF ile tedavi edilen farelerde büyüyen folliküllerin sayısında azalma, granülosa ve teka hücre proliferasyonunda baskılanma ve ovüle olan oosit sayısında belirgin azalma olduğu izlenmiş, follikül gelişimi, ovulasyon, luteinizasyon ve luteal regresyonda MIF'in önemli bir rol oynadığı düşünülmüştür(99).

Menstrüel siklus süresince endometriyumda, özellikle epitelyal hücrelerde MIF'in eksprese edildiği gösterilmiş, özellikle ovulatuvar ve geç sekretuar dönemde MIF düzeylerinin arttığı saptanmıştır(100). İnsan uterin mukozasında MIF ekspresyonunu kontrol eden faktörleri araştıran çalışmalarda ise, kültüre insan endometriyal stromal hücrelerinde koryonik gonadotropin hormon ve IL-1, TNF- α gibi inflamatuvar sitokinlere yanıt olarak MIF proteini ve mRNA düzeyinde artış olduğu gösterilmiştir(97).

MIF'in endometriyotik lezyonlarla ilişkisine yönelik yapılan çalışmalarda, ilk kez Yang ve ark. (101) tarafından endometriyotik hücre kültüründe proliferasyona yanıt olarak MIF üretimi olduğu gösterilmiştir. Endometriozisli hastalarda yapılan çalışmalarda ise, endometriyotik lezyonlarda MIF'in eksprese edildiği, peritoneal sıvılarda ve periferik kanda MIF düzeylerinin artmış olduğu izlenmiştir(102,103). Akoum ve ark. (104) tarafından yapılan çalışmada, MIF'in peritoneal sıvı ve periferik kan düzeyleri ile endometriozisin şiddeti arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada, infertil, aktif endometriyotik lezyonları olan ve ileri evre endometriozisli hastalarda daha yüksek periferik kan ve peritoneal sıvı MIF düzeyleri saptanmıştır(104). Benzer olarak Mahutte ve ark. (105) tarafından yapılan çalışmada ise, endometriozisli hastalarda yüksek peritoneal sıvı MIF düzeyleri gösterilmiş ancak hastalığın şiddeti ile MIF düzeyleri arasında ilişki bulunamamıştır.

Tekrarlayan abortuslarda MIF düzeylerinin incelendiği bir çalışmada, erken gebelik haftalarında tekrarlayan abortus öyküsü olan normal karyotipli hastalarda, kontrol grubuna

göre daha düşük kan MIF düzeyleri saptanmış, abortus etyolojisinde MIF'in rolü olabileceği öne sürülmüştür(106).

2.6.2 MIF' in preterm ve term doğumda önemi

Gebelikte insan plasentasında koryonik villus sitotrofoblastlarında ve ekstrasvillöz trofoblastlarda MIF proteini bulunmaktadır(97). Ietta ve ark.'nın (107) yaptığı çalışmada, MIF'in amniyon epitelyal hücrelerinde, amniyo-koryon mezenkimal tabakasında ve koryon tabakasında bulunduğu ve MIF düzeylerinin termde artarak doğumda en yüksek düzeye ulaştığı gösterilmiştir. Benzer olarak Chaiworapongsa ve ark.'nın (108) yaptığı çalışmada ise, gebelik süresince amniyotik epitelyal hücreler ve amniyotik sıvıda MIF'in bulunduğu ve termde MIF düzeylerinin arttığı gösterilmiş ancak doğum sırasında belirgin bir yükselme izlenmemiştir.

Plasenta ve fetal membranlardan MIF salınımını düzenleyen faktörlerle ilgili olarak yapılan çalışmalarda, hipoksik koşullarda villöz doku örneklerinde MIF ekspresyonu ve sekresyonunun arttığı gösterilmiştir(109). MIF ile NO arasında karşılıklı etkileşim olduğunu gösteren bir çalışmada, NO donörü olan sodyum nitroprusid tedavisi uygulanan term fetal membranlarda MIF salınımı artarken rekombinant MIF ile tedavi sonrası NO metabolitlerinde ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) mRNA düzeylerinde belirgin azalma gözlenmiştir(97). Zicari ve ark. (110) tarafından yapılan çalışmada ise, anti-MIF antikoru ile tedavi edilen fetal membranlarda nitrit salınımı ve iNOS ekspresyonunun arttığı saptanmıştır.

Gebelikte maternal serum MIF düzeyleri ile ilgili yapılan çalışmalarda ise, gebe olmayan kontrollere göre gebelikte maternal serum MIF düzeylerinin arttığı gösterilmiş ancak gebelik süresince trimesterler arasında MIF düzeylerinde farklılık izlenmemiştir(111,112). Amniyotik kavitenin mikrobiyal enfeksiyonlarında ve preterm doğumda MIF düzeyleri ile ilişkili olarak, Pearce ve ark.'nın yaptığı çalışmada, 9-23. gebelik haftaları arasında maternal serum MIF düzeylerinin, preterm doğum gelişen hastalarda termde doğum yapan hastalara göre daha yüksek olduğu izlenmiştir(12). Chaiworapongsa ve ark. (13) ise, preterm doğum yapan ve intraamniyotik enfeksiyon bulunan hastalarda, steril amniyotik sıvı saptanan hastalara göre artmış amniyotik sıvı MIF düzeyleri olduğunu göstermiştir. Buna ek olarak, erken doğum tehditi olan ve steril amniyotik sıvı saptanan hastalar arasında, preterm doğum gerçekleşen grupta amniyotik sıvı MIF düzeyleri, termde doğum gerçekleşen gruba göre daha yüksek bulunmuştur.

2.7 Preterm doğum modelleri

Enfeksiyon ve/veya inflamasyonun preterm doğum mekanizmasında önemli yeri olduğu düşünüldüğünden benzer olarak hayvanlarda enfeksiyöz ve inflamatuvar ajanlarla preterm doğum modelleri oluşturulmuştur. Biyolojik olarak bazı farklılıklar olmasına rağmen kemirgenler reproduktif biyoloji açısından insanlarla belirgin benzerlikler göstermektedir ve daha fazla sayıda ve daha düşük maliyetle elde edilebilir olmaları nedeniyle doğum modellerinde sıklıkla kullanılmaktadır(113). Bu modellerde, insanda amniyotik sıvı kültürleri pozitif saptanan preterm doğum olgularını taklit etmek için canlı bakteriler kullanılırken, klinik olarak enfeksiyon bulgusu olmayan preterm doğum olguları için ölü bakteriler, LPS veya lipoteikoik asit gibi hücre duvarı komponentleri veya IL-1 gibi proinflamatuvar sitokinler kullanılmaktadır ve her iki yöntem ile kemirgenlerde ve insan dışı primatlarda preterm doğum modeli oluşturulabilmektedir(113).

Bölüm 3

GEREC VE YÖNTEM

Çalışma prospektif, plasebo kontrollü deneysel araştırma olarak yapıldı. Dokuz Eylül Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri ödeneğinden 2009.KB.SAG.059 numaralı proje olarak desteklenmiş ve Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır. Deney Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarında yapıldı. Dokuda sitokin incelemeleri Biyokimya Anabilim Dalı tarafından gerçekleştirildi.

3.1 Deney hayvanları

TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan Balb/C soyuna ait toplam 62 adet gebe fare çalışmaya alınmıştır. Gebelik için vajinal smearla östrus dönemi saptanan dişi fareler katıma bırakıldı. Vajinal plug izlenen fareler gebeliğin 1. günü olarak kabul edilmiştir. Çalışma süresince 13-14. günde gebe olmadığı saptanan 14 fare çalışmadan çıkarıldı. Fareler 20-25 C ısı, %50 nem, 12 saat karanlık ve 12 saat fotoperiyotta, standart besin ve su ile beslendi.

LPS ile oluşturulmuş preterm doğum modelinde Anti-MIF etkinliğini değerlendirmek üzere çalışma 2 ayrı grupta planlandı. Birinci deney grubunda, Anti-MIF antikorunun gebelik süresi ve fetus ağırlıkları üzerine etkilerini değerlendirmek için toplam 24 adet fare çalışmaya alındı ve 4 alt gruba ayrıldı. İkinci deney grubunda Anti-MIF antikorunun 8. saatte gestasyonel dokularda sitokin düzeyleri üzerine etkisini değerlendirmek için 24 adet fare çalışmaya alındı. Daha önce literatürde belirtilen ve özellikle bu fare cinsinde en yüksek oranda preterm doğum elde edilen model uygulandı(114). Bu fare cinsinde term gebelik süresi 19-21 gündür ve 17-18. günlerde doğumun gerçekleşmesi preterm doğum kabul edilmektedir(115).

3.2 Deney grupları

Birinci deney grubundaki fareler 4 alt gruba ayrıldı.

Grup 1: Gebeliğin 17. Gününde İP olarak, 3 saat arayla iki kez 0.1 ml içerisinde 10 µg LPS (Escherichia coli 055:B5 den elde edilmiş LPS, hazır solusyon, 1mg/ml, Sigma) verilerek preterm doğum modeli oluşturuldu (n=6).

Grup 2: Gebeliğin 17. gününde İP olarak 3 saat arayla iki kez 0.1 ml içerisinde 10 µg LPS uygulamasının ilk dozu ile eş zamanlı olarak İP yol ile 0.1 ml içerisinde 100 µg dozunda Anti-MIF (100µg, pürifiye rabbit anti-MIF poliklonal antikor, BioVision) verildi (n=6).

Grup 3: Gebeliğin 17.gününde 0.1 ml içerisinde 100 µg dozunda İP olarak Anti-MIF antikoru uygulanmasından 2 saat sonra 3 saat arayla iki kez 0.1 ml içerisinde 10 µg LPS İP olarak verildi (n=6).

Grup 4: Gebeliğin 17. gününde 3 saat arayla iki kez 0.1 ml serum fizyolojik İP olarak verilerek kontrol grubu oluşturuldu (n=6).

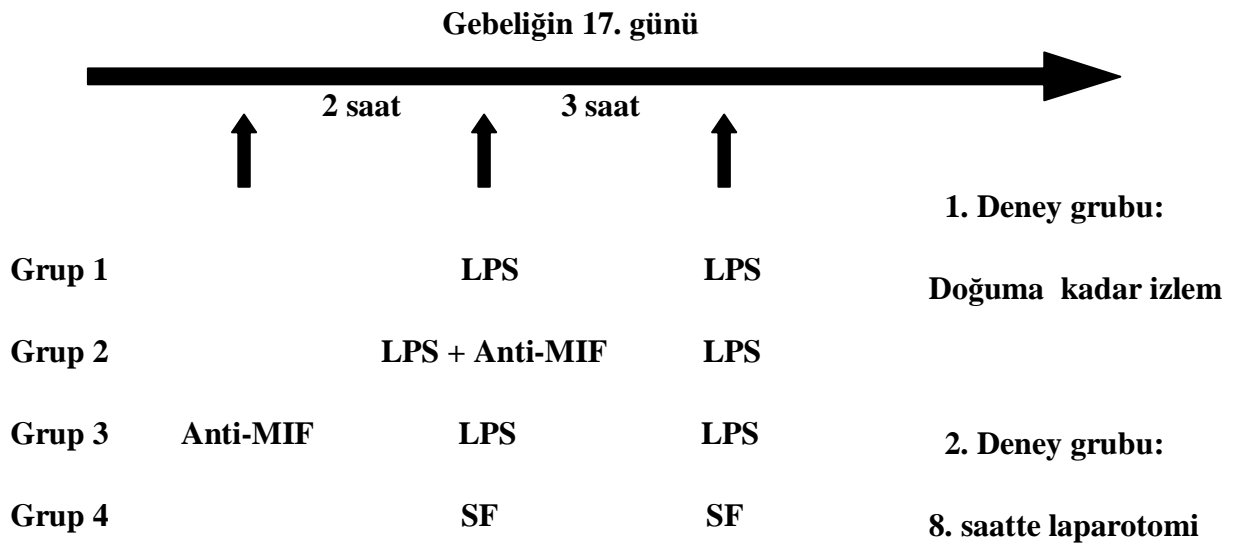
İkinci deney grubundaki farelerde aynı 4 alt grup oluşturuldu. Bu gruptaki farelere gebeliğin 17. gününde ilk LPS uygulamasından 8 saat sonra eter anestezisi altında steril şartlarda laparotomi yapıldı (Resim 3.1). Her fareden iki farklı implantasyon bölgesinden uterus, plasenta ve fetal doku örnekleri alındı (Resim 3.2). Gestasyonel doku örnekleri serum eklenerek sıvı nitrojende donduruldu ve -80⁰ C de saklandı. Çalışmaya alınan farelerin tümü çalışma bitiminde yüksek doz eter anestezisi ile sakrifiye edildi.



Resim 3.1: İnce ok ile tek bir fetusa ait plasenta gösterilmektedir. Kalın ok ile fetus işaretlenmiştir.



Resim 3.2: İmplantasyon bölgesindeki uterus, plasenta ve fetal doku örneklerinin alınması



Şekil 3.1: Çalışmanın şematik olarak özeti

3.3 Sitokin analizi

Sitokin analizi için, dondurulmuş dokular -80 C'den alınarak +4 C'de çözülmeye bırakıldı. Çözülen dokular tartıldıktan sonra proteaz inhibitör kokteyli (Complete Mini, EDTA-free-Roche) içeren 1xfosfat tampon çözelti (Phosphate Buffered Saline=PBS) içerisinde tissue lyser (Qiagen-Almanya) cihazı ile 2 dakika homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar +4 C'de 15 dakika 13,000 X g de santrifüj edildi. Supernatantların total protein içeriğini belirlemek için Bradford yöntemi kullanıldı. Daha sonra supernatantlardan TNF- α ve IL-6 sitokin düzeylerinin ölçümü için Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) (BenderMedSystem's-Avusturya) yöntemi uygulandı. Her sitokin için belirlenen standart grafiklerden yararlanılarak konsantrasyonları pg/ml olarak hesaplandı. Elde edilen sitokin düzeyleri doku homojenizatındaki total protein miktarına oranlanarak sonuçlar pg/mg protein olarak verildi.

3.4 İstatistiksel analiz

Tüm istatistikler "SPSS for Windows 15.0" istatistik programı ile yapıldı. Deney grupları arasındaki doğuma kadar geçen süre, fetus ağırlıkları ve gestasyonel dokularda TNF- α ve IL-6 sitokin düzeyleri farklılıklarının değerlendirilmesi için Kruskal-Wallis varyans analiz yöntemi kullanıldı. İkili gruplar arasında sonuçlar Wann-Withney U yöntemi ile karşılaştırıldı. P değeri 0.05'den düşük olan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bölüm 4

BULGULAR

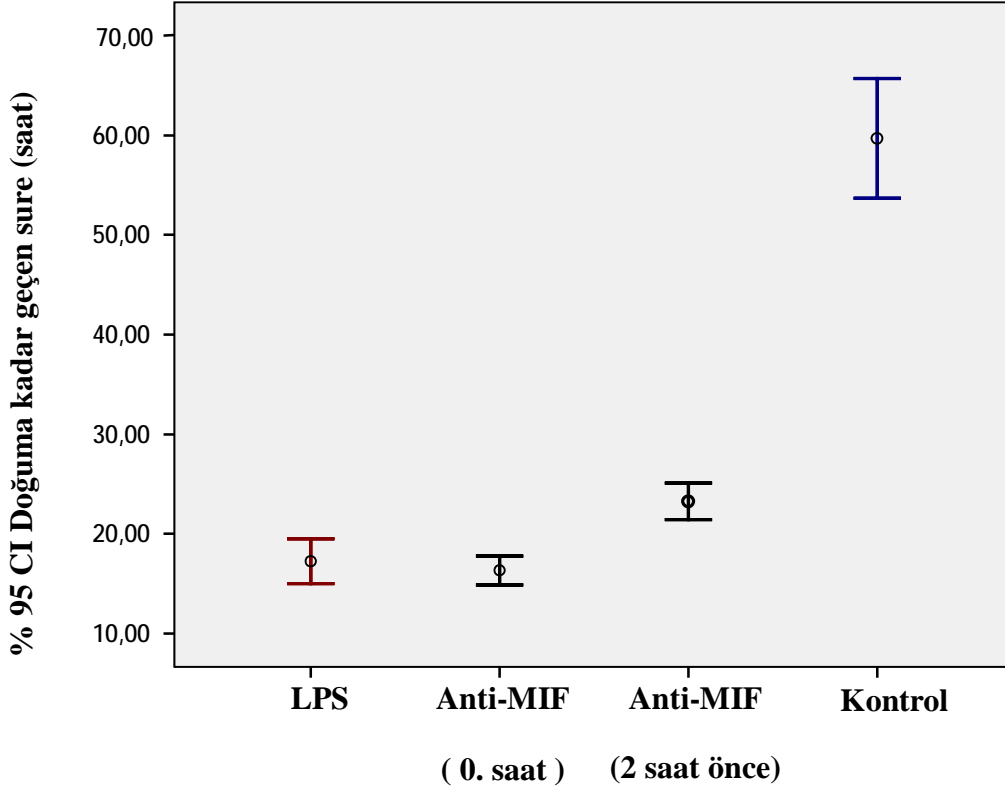
4.1 Obstetrik sonuçlar

LPS uygulamasından doğuma kadar geçen süre tablo 4.1 ve şekil 4.1 de gösterilmiştir. Deney sırasında LPS grubunda maternal mortalite izlenmeksizin tüm farelerde preterm doğum modeli oluşturuldu. Kontrol grubundaki tüm fareler, fareler için term gebelik süresi olarak kabul edilen 19-20. günlerde doğum yapmıştır. Kontrol grubu dışındaki diğer gruplarda farelerin tümü, fareler için preterm doğum kabul edilen gebeliğin 18. gününde doğum yapmıştır.

Grup 1’de doğuma kadar geçen süre ortalama 17.2 saat iken grup 2, 3 ve 4’te sırasıyla 16.3, 23.2 ve 59.6 saat bulundu.

Tablo 4.1: Tüm gruplarda doğuma kadar geçen süre

| Gruplar (n=6) | Ortalama (saat) | ± SD | %95 Güven aralığında ortalama değerler | |
|----------------------------|-----------------|--------|--|-----------------|
| | | | Minimum (saat) | Maksimum (saat) |
| LPS | 17,25 | ± 2,11 | 15,03 | 19,47 |
| LPS + 0.saat anti-MIF | 16,33 | ± 1,37 | 14,89 | 17,76 |
| LPS + 2 saat önce anti-MIF | 23,25 | ± 1,72 | 21,43 | 25,06 |
| Kontrol | 59,66 | ± 5,75 | 53,63 | 65,70 |



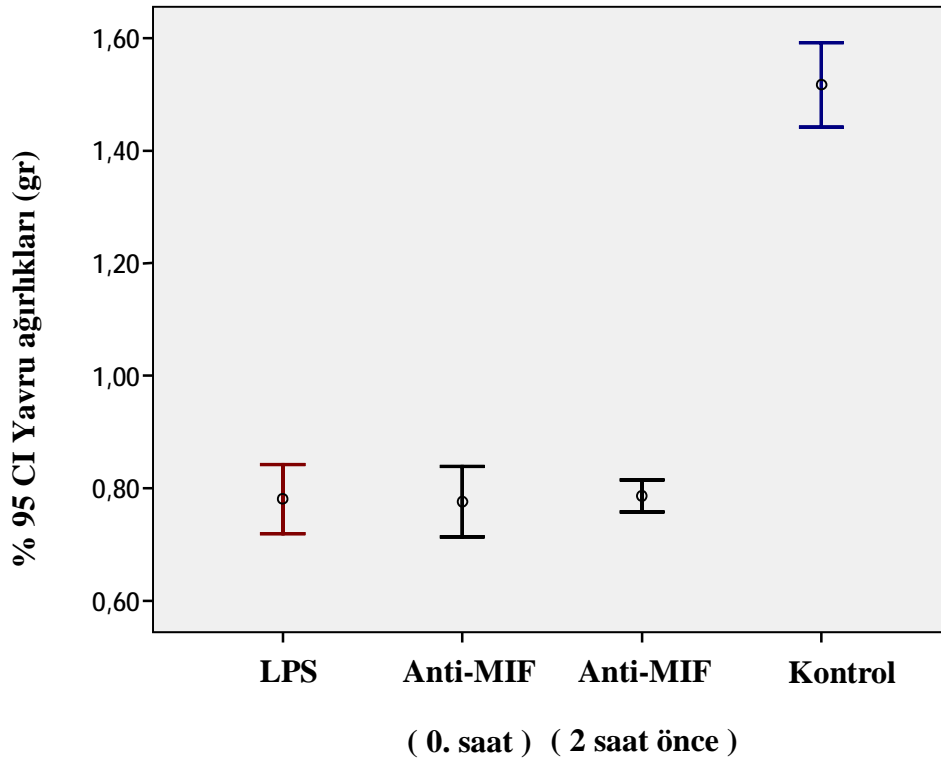
Şekil 4.1: Doğuma kadar geçen ortalama süre

Doğuma kadar geçen süre gruplar arasında karşılaştırıldığında; LPS den 2 saat önce Anti-MIF verilen **grup 3**'te, LPS ile preterm doğum oluşturulan **grup 1** ve LPS ile eş zamanlı Anti-MIF verilen **grup 2**' ye göre doğuma kadar geçen süre daha uzun saptanmıştır ve bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p değeri .004 ve .004). Grup 1 ve grup 2 arasında doğuma kadar geçen süre açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmemiştir.

Tüm gruplarda yavru ağırlıkları tablo 4.2 ve şekil 4.2 de gösterilmiştir. Bulgular gruplar arasında karşılaştırıldığında, grup 1 ile Anti-MIF tedavisi verilen gruplar (Grup 2 ve Grup 3) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Tablo 4.2: Tüm gruplarda yavru ağırlıkları

| Gruplar (n=6) | Ortalama (gr) | ± SD | %95 Güven aralığında ortalama değerler | |
|----------------------------|---------------|--------|--|---------------|
| | | | Minimum (gr) | Maksimum (gr) |
| LPS | ,78 | ± ,059 | ,72 | ,84 |
| LPS + 0.saat anti-MIF | ,77 | ± ,060 | ,712 | ,84 |
| LPS + 2 saat önce anti-MIF | ,79 | ± ,027 | ,76 | ,81 |
| Kontrol | 1,51 | ± ,072 | 1,44 | 1,59 |



Şekil 4.2: Ortalama yavru ağırlıkları

Tablo 4.3: Doğuma kadar geçen süre ve yavru ağırlıklarının gruplar arasında karşılaştırılması

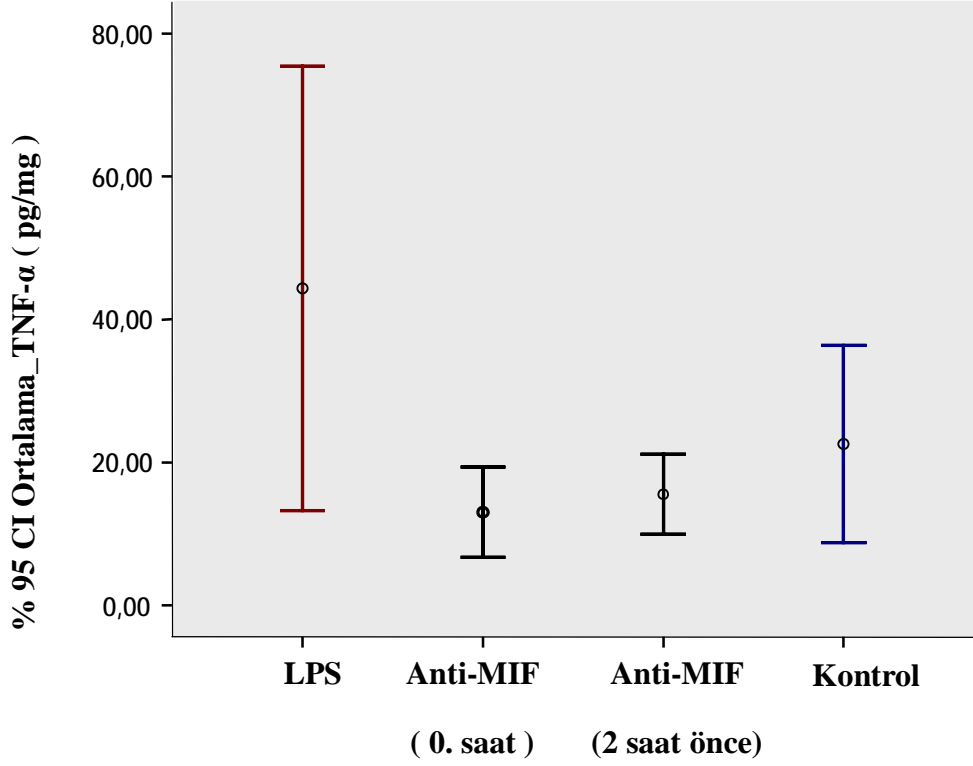
| Karşılaştırılan Gruplar | P değeri | |
|---|--------------------------------|--------------------------|
| | Doğuma kadar geçen süre | Yavru ağırlıkları |
| LPS - anti MIF (0. saat) | ,260 | 1,000 |
| LPS - anti MIF (2 s önce) | ,004 | ,873 |
| Anti MIF - anti MIF (0. saat) (2 s önce) | ,004 | ,749 |
| Kontrol - anti MIF (0. saat) | ,004 | ,004 |
| Kontrol - anti MIF (2 s önce) | ,004 | ,004 |
| Kontrol - LPS | ,004 | ,004 |

4.2 Gestasyonel dokularda sitokin düzeyleri

Gestasyonel doku örneklerinde ortalama TNF- α düzeyleri tablo 4.3 ve şekil 4.3 de, IL-6 düzeyleri tablo 4.4 ve şekil 4.4 de gösterilmiştir.

Tablo 4.3: Tüm gruplarda ortalama TNF- α düzeyleri

| Gruplar (n=6) | Ortalama (pg/mg) | \pm SD | %95 Güven aralığında ortalama değerler | |
|----------------------------|------------------|-------------|--|------------------|
| | | | Minimum (pg/mg) | Maksimum (pg/mg) |
| LPS | 44,36 | \pm 29,60 | 13,30 | 75,43 |
| LPS + 0.saat anti-MIF | 13,03 | \pm 6,01 | 6,72 | 19,34 |
| LPS + 2 saat önce anti-MIF | 15,52 | \pm 5,31 | 9,94 | 21,10 |
| Kontrol | 22,55 | \pm 13,13 | 8,77 | 36,34 |



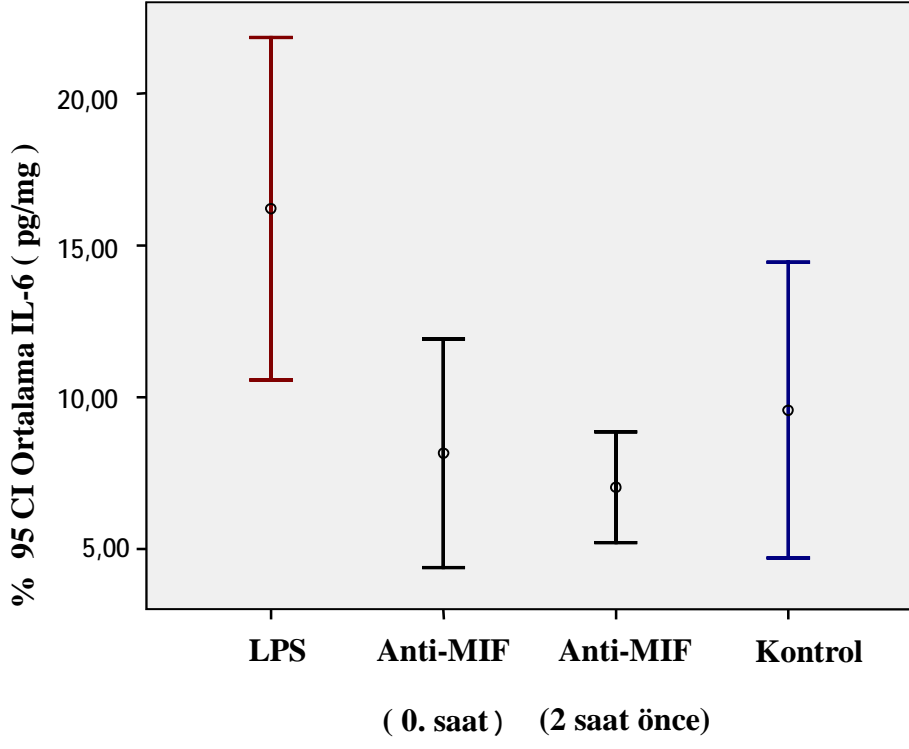
Şekil 4.3: Gestasyonel dokularda ortalama TNF- α düzeyleri

Ortalama TNF- α düzeyleri 0. saatte Anti-MIF verilen grup 2’de, grup 1’e göre daha düşük saptanmıştır ve bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur($p=0.01$). Anti-MIF’in 2 saat önce verildiği grup 3’te ortalama TNF- α düzeyleri grup 1’e göre daha düşük izlenmiş olup bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır($p=0.01$). Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında ortalama TNF- α düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık izlenmemiştir. Anti-MIF verilen grup 2 ve grup 3 arasında ortalama TNF- α düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Tablo 4.4: Tüm gruplarda ortalama IL-6 düzeyleri

| Gruplar (n=6) | Ortalama (pg/mg) | ± SD | %95 Güven aralığında ortalama değerler | |
|----------------------------|------------------|--------|--|------------------|
| | | | Minimum (pg/mg) | Maksimum (pg/mg) |
| LPS | 16,20 | ± 5,38 | 10,56 | 21,85 |
| LPS + 0.saat anti-MIF | 8,15 | ± 3,59 | 4,38 | 11,91 |
| LPS + 2 saat önce anti-MIF | 7,02 | ± 1,74 | 5,20 | 8,84 |
| Kontrol | 9,56 | ± 4,64 | 4,69 | 14,44 |

Ortalama IL-6 düzeyleri gruplar arasında karşılaştırıldığında; 0. saatte Anti-MIF verilen grup 2'de, grup 1'e göre daha düşük ortalama IL-6 düzeyleri saptanmıştır ve bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=.025). Anti-MIF'in 2 saat önce verildiği grup 3'te ortalama IL-6 düzeyleri grup 1'e göre daha düşük izlenmiştir ve bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır(p=.006). Kontrol grubu ile diğer gruplar arasında ortalama IL-6 düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık izlenmemiştir. Anti-MIF verilen grup 2 ve grup 3 arasında ortalama IL-6 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.



Şekil 4.4: Gestasyonel dokularda ortalama IL-6 düzeyleri

Tablo 4.3: Gestasyonel dokularda TNF- α ve IL-6 düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması

| Karşılaştırılan Gruplar | P değeri | |
|--|---|----------------------|
| | Ortalama TNF-α | Ortalama IL-6 |
| LPS - anti MIF (0.saat) | ,010 | ,025 |
| LPS - anti MIF (2 s önce) | ,010 | ,006 |
| Anti MIF - anti MIF (0.saat) (2.s önce) | ,229 | ,749 |
| Kontrol - anti MIF (0.saat) | ,109 | ,749 |
| Kontrol - anti MIF (2 s önce) | ,522 | ,630 |
| Kontrol - LPS | ,109 | ,055 |

Bölüm 5

TARTIŞMA

Term ve preterm doğumun başlamasında yer alan biyokimyasal değişiklikler inflamatuvar reaksiyona benzemektedir ve giderek artan sayıda kanıt proinflamatuvar sitokinlerin ve PG'lerin merkezi rolüne işaret etmektedir(116). Term ve preterm doğumların her ikisinde de amniyotik sıvıda artmış sitokin düzeyleri ve myometriyumda artmış nötrofil ve makrofaj infiltrasyonu gösterilmiştir(117). Proinflamatuvar sitokinlerin uterin kontraksiyonların düzenlenmesinde görevli proteinlerin ve PG'lerin sentezini düzenleyerek term ve preterm doğum eyleminin başlamasına neden olabileceği ileri sürülmüştür(8).

Preterm doğum patogenezinde maternal veya fetal inflamatuvar yanıtın önemli olduğunu düşündüren bulgular mevcuttur(7,43,45,47). Spontan preterm doğumların yaklaşık %50 oranında enfeksiyon ile ilişkili olduğu bilinmekle birlikte bu olguların büyük kısmında enfeksiyon subklinik seyretmektedir(6). Cochrane Kütüphanesi tarafından yapılan sistematik derlemede, membranların intakt olduğu preterm doğum eylemindeki hastalarda rutin antibiyotik tedavisinin preterm doğumu önlemede etkisinin olmadığı belirtilmekte ve neonatal mortalitede artışa neden olabilmesi nedeniyle kullanımı önerilmemektedir(118).

Steel ve ark.'nın (119) yaptığı çalışmada ise, termde elektif sezaryen yapılan hastaların yaklaşık %70'inde bakteriyel invazyon ve inflamasyon bulguları saptanmış, koryoamniyotik membranların bakteriyel kolonizasyonunun her zaman preterm doğuma neden olmadığı gösterilmiştir.

Deneyisel olarak hayvanlarda bakteriler ile, LPS gibi bakteri hücre duvarı komponentleri ile ve IL-1 β , TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerle preterm doğum modelleri oluşturulabilmektedir(113). LPS'nin insanda kültüre amniyokoryonik membranlardan IL-1 β , IL-6, IL-8 ve TNF- α salınımına neden olduğu gösterilmiştir(120). Doku ve hücre çalışmalarında, bu sitokinlerin amniyon, desidua ve myometriyumdan PG'ler ve oksitosin salınımına neden olduğu gösterilmiştir(116).

Bazı araştırmacılar tarafından, enfeksiyon etkeninin izole edilemediği erken sepsis olgularında izlenen sistemik inflamatuvar yanıt sendromundaki benzer süreçlerin, preterm doğum patogenezinde rol oynadığı öne sürülmüştür(3,59). Maternal veya fetal inflamatuvar yanıtın kontrolünde bir bozukluk varlığında, dokularda aşırı sitokin üretimine bağlı gelişen patolojik hasarlanmanın preterm doğuma neden olabileceği düşünülmüştür(3,59).

Kurmuş olduğumuz bu deneysel çalışmada, anti-MIF antikorunun proinflamatuvar sitokinlerin sentezini baskılayarak preterm doğumu önleyebileceği öngörülmüştür. Bu amaçla yapılan çalışmada, Anti-MIF tedavisi verilen farelerde gebelik süresinin uzadığı, gestasyonel dokularda TNF- α ve IL-6 düzeylerinde baskılanma olduğu izlenmiştir. Yapılan diğer çalışmalarda, preterm doğumun önlenmesinde antiinflamatuvar etkinliğe sahip farklı ajanlarla tedavide benzer sonuçlar elde edilmiştir(114,121-127).

Çalışmamızda kontrol grubu ile diğer gruplar arasında gestasyonel dokularda sitokin düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Gebelik sürelerinde farklılığa rağmen sitokin düzeylerinin benzer olmasının, sitokin kaskadının preterm doğumda uyarılmış olmasından kaynaklandığı ancak gestasyonel doku örneklerinin yalnız bir kez değerlendirilmesi nedeni ile sadece 8. saat'teki sitokin düzeylerinin henüz anlamlı olarak yükselmemesine bağlı olabileceği düşünülmektedir. Doku sitokin düzeylerine belirli aralıklarla bakılabilmesi durumunda, çalışma ve kontrol grubundaki sonuçlar arasında farklılık olabileceği öngörülmektedir.

Antiinflamatuvar etkinliği olduğu düşünülen laktoferrin ile yapılmış çalışmalarda, laktoferrinin gebelik süresini uzattığı, maternal plazma IL-6 ve TNF- α düzeylerinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir(121). Paintlia ve ark.'nın (122) yaptığı çalışmada, LPS'nin plasentada lökosit infiltrasyonunda, fosfolipid metabolizmasında ve lipid peroksidasyonunda artışa neden olduğu izlenmiş, antioksidan etkinliğe sahip N-asetil sistein tedavisi ile preterm doğumun önlendiği, amniyotik sıvıda IL-6 ve TNF- α sitokinlerinin protein ekspresyonlarında, plasentada lökosit infiltrasyonunda, kemokinlerin, hücrel adezyon moleküllerinin ve COX-2 ekspresyonunda azalma olduğu gösterilmiştir.

Prostaglandin sentezinde anahtar enzim olan siklooksijenaz (COX) enziminin inhibisyonuna yönelik çalışmalarda, selektif COX-2 inhibitörü olan selekoksib'in gebelik süresini, preterm doğum oranını ve gestasyonel dokularda PG'lerin sentezini azalttığı ancak maternal serum TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeylerinde değişikliğe neden olmadığı saptanmıştır(123). Benzer olarak, PG'lerin sentezinde görevli prostaglandin H sentaz-2 (PGHS-2) inhibisyonuna neden olan tirozin kinaz inhibitörlerinin farelerde LPS ile oluşturulmuş preterm doğumu engellediği gösterilmiştir(114).

Proinflamatuvar sitokinlerin baskılanarak preterm doğumun engellenmesi amacıyla yapılmış çalışmalarda sitokin ağının büyük ve kompleks yapıda olması nedeniyle tek sitokini baskılamaya yönelik tedavilerin preterm doğumu önlemede yetersiz kaldığı öne sürülmüştür(124). Holmgren ve ark.'nın (124) yaptığı çalışmada, anti-TNF- α tedavisinin preterm doğum ve fetal kayıp riskini azalttığı, IL-6, IL-1 β , TLR-2, CD14 ve COX-1

ekspresyonlarını belirgin olarak baskıladığı gösterilmiş ancak LPS'nin etkilerini tamamen önlemediği izlenmiştir.

Hirsch ve ark.'nın (125) yaptığı çalışmada ise, genetik olarak IL-1 β ve TNF- α reseptörleri defektli farelerde bakterilerle oluşturulmuş preterm doğuma belirgin olarak direnç geliştiği izlenmiş, bu iki sitokinin inhibisyonunun bakterilerin etkilerini tamamen engelleyemediği gösterilmiştir. Benzer olarak, Fidel ve ark.'nın (126) yaptığı çalışmada, antisitokin ajanlar olan IL-1 reseptör antagonistlerinin ve solubl TNF- α reseptör Fc füzyon proteininin farelerde LPS ile oluşturulmuş preterm doğumu engellemediği ve gebelik süresini uzatmadığı izlenmiştir.

Robertson ve ark.'nın (127) yaptığı çalışmada ise, inflamatuvar yanıtların baskılanmasında görevli olan IL-10'un gestasyonel dokularda TNF- α , IL-1 ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin sentezinde azalmaya neden olduğu ve genetik olarak IL-10 defektli farelerde preterm doğum gelişimi riskinin arttığı gösterilmiştir.

Makrofaj migrasyon inhibitör faktör, inflamatuvar ve antiinflamatuvar süreçlerin dengelenmesinde merkezi öneme sahiptir. Bakteriyel komponentlere karşı gelişen doğal immün yanıtta görevlidir ve makrofajlardan TNF- α , IL-8 gibi proinflamatuvar sitokinlerin ve mediyatörlerin salınımını uyarır(93). Gebelikte MIF'in rolüne ilişkin sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu konuda yapılan en son çalışmada, 9-23. gebelik haftalarında maternal serumda sitokin ve hormon düzeylerinin preterm doğum ile ilişkisi araştırılmış, yüksek MIF, TNF- α , IL-10 ve C-reaktif protein düzeylerinin artmış preterm doğum riski ile birlikte olduğu gösterilmiştir(128). Buna ek olarak aynı çalışmada, MIF'in preterm doğum ile ilişkili olan en güçlü belirteçlerden biri olduğu belirtilmiştir.

Pearce ve ark.'nın (12) yaptığı çalışmada da benzer olarak 9-23. gebelik haftaları arasında yüksek maternal serum MIF düzeylerinin, sonraki gebelik haftalarında preterm doğum gelişimi ile birlikte olduğu izlenmiştir. Chaiworapongsa ve ark.'nın (13) yaptığı çalışmada ise, amniyotik sıvıda yüksek MIF düzeylerinin daha kısa amniyosentez-doğum aralığı ile ilişkili olduğu gösterilmiş ve intrauterin MIF üretiminin özellikle enfeksiyon varlığında doğum eyleminin başlamasında rol oynayabileceği öne sürülmüştür.

DeneySEL olarak hayvanlarda oluşturulmuş çok sayıda inflamatuvar ve otoimmün hastalık modelinde anti-MIF antikorları ile tedavide belirgin iyileşme gözlenmiştir(90,129-137). Ancak literatürde anti-MIF tedavisinin preterm doğumu önlemedeki etkinliğini araştıran çalışma bulunmamaktadır.

Bernhagen ve ark. (90) tarafından yapılan çalışmada, farelerde tüberküline bağlı gecikmiş tipte hipersensitivite yanıtı modelinde anti-MIF tedavisi sonrası antijen bölgesinde azalmış makrofaj infiltrasyonu izlenmiştir.

Farelerde oluşturulmuş gram negatif sepsis modelinde, anti-MIF antikorlu tedavisi ile lethal sonuçların önleniği, dolaşımdaki bakteri sayısının ve plazma TNF- α düzeylerinin daha düşük olduğu gösterilmiştir(129). Benzer olarak Calandra ve ark.'nın (130) yaptığı çalışmada, farelerde oluşturulmuş gram pozitif sepsis modelinde anti-MIF antikorlarıyla tedavi sonrası sağkalım oranında belirgin olarak artış izlenmiştir.

İnsanlardaki akut respiratuar distress sendromuna benzer olarak, ratlarda LPS ile oluşturulmuş akut akciğer hasarında, anti-MIF antikorları ile tedavinin akciğerde nötrofil infiltrasyonunu belirgin olarak azalttığı saptanmıştır(131). Deneysel aterosklerozis modelinde, anti-MIF tedavisi ile makrofaj infiltrasyonunda ve TNF- α , IL-12 gibi proinflamatuvar mediyatörlerin üretiminde azalma olduğu gösterilmiştir(132).

Ratlarda immunolojik olarak oluşturulmuş renal hastalık modelinde anti-MIF antikorlu tedavisi ile şiddetli proteinürinin engellendiği ve normal renal histolojinin devam ettiği saptanmıştır(133). Antijen ile geliştirilen artrit modelinde anti-MIF verilen farelerde synoviumda hücreyel infiltrasyonun tamamen gerilediği gösterilmiştir(134). Benzer olarak, MIF nötralizasyonunun farelerde deneysel olarak oluşturulmuş otoimmün ensefalomyelitin şiddetinde ve süresinde azalmaya neden olduğu izlenmiştir(135).

Cvetkovic ve ark.'nın (136) yaptığı çalışmada da, otoimmün diyabet oluşturulmuş farelerde anti-MIF'in pankreatik dokuda mononükleer hücre infiltrasyonunda ve proinflamatuvar sitokinlerin üretiminde azalmaya neden olarak normoglisemiye neden olduğu saptanmıştır. Ratlarda oluşturulmuş deneysel otoimmün myokardit modelinde, anti-MIF ile tedavi sonrası myokardiyal lezyonlarda belirgin azalma izlenmiştir(137).

Sitokinler doğal ve kazanılmış immün yanıtların aktivasyonunda görevli olduğundan antisitokin tedavilerinin enfeksiyonlara karşı konak savunma mekanizmalarını bozabileceği öne sürülmektedir(89). Ancak MIF inhibisyonunun sistemik inflamatuvar yanıtları baskıladığı, bakterilere karşı konağın doğal savunma mekanizmalarını etkilemediği ve rekombinan MIF'in bakteriyel büyüme üzerine direkt bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir(129).

Sonuç olarak, Anti-MIF tedavisinin preterm doğumu önlemedeki etkinliğinin ilk kez araştırıldığı bu çalışmada LPS den 2 saat önce anti-MIF verilen grupta doğuma kadar geçen süre yalnız LPS verilen gruba göre belirgin olarak daha uzun saptandı ($P=.004$). LPS ile eş zamanlı anti-MIF tedavisinin gebelik süresine etkisinin olmadığı izlendi. LPS ile eş zamanlı

($P= .01$ ve $.025$) ve 2 saat önce ($P= .01$ ve $.006$) anti-MIF verilen gruplarda gestasyonel dokularda TNF- α ve IL-6 düzeyleri belirgin olarak daha düşük bulundu.

Bu bulgular ışığında, preterm doğum gelişiminde inflamatuvar süreçlerin ve MIF'in önemli olduğu, anti-MIF antikolarıyla nötralizasyonunun preterm doğumu geciktirebileceği gösterilmiştir. Ancak anti-MIF antikolarının farklı doz, süre ve uygulama sıklığı ile yapıldığı yeni çalışmalara gereksinim bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Goldenberg RL. The Management of Preterm Labor. *Obstet Gynecol* 2002;100:1020-37.
2. Lumley J. Defining the problem: the epidemiology of preterm birth. *BJOG* 2003;110 Suppl 20:3-7
3. Dudley DJ. Preterm labor: an intra-uterine inflammatory response syndrome? *J Reprod Immunol* 1997;36:93-109
4. Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med* 2000;342:1500-07.
5. Dudley DJ. Immunoendocrinology of preterm labor: The link between corticotropin-releasing hormone and inflammation. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:251-6
6. Klein LL, Gibbs RS. Infection and preterm birth. *Obstet Gynecol Clin N Am* 2005;32:397-410
7. Elliott CL, Loudon JA, Brown N, Slater DM ve ark. IL-1beta and IL-8 in human fetal membranes: changes with gestational age, labor, and culture conditions. *Am J Reprod Immunol*. 2001;46: 260–7.
8. Christiaens I, Zaragoza DB, Guilbert L, Robertson S ve ark. Inflammatory processes in preterm and term parturition. *J Reprod Immunol* 2008;79:50-7
9. Baugh JA, Bucala R. Macrophage migration inhibitory factor. *Crit Care Med* 2002;30:27-35
10. Flaster H, Bernhagen J, Calandra T, Bucala R. The macrophage migration inhibitory factor-glucocorticoid dyad: regulation of inflammation and immunity *Mol Endocrinol* 2007;21:1267-80
11. Cvetkovic I, Stosic-Grujicic S. Neutralization of macrophage migration inhibitory factor-novel approach for the treatment of immunoinflammatory disorders. *Int Immunopharmacol* 2006;10:1527-34
12. Pearce BD, Garvin SE, Grove J, Bonney EA ve ark. Serum macrophage migration inhibitory factor in the prediction of preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 2008;199:46.e1-46.e6
13. Chaiworapongsa T, Romero R, Espinoza J, Kim YM ve ark. Macrophage migration inhibitory factor in patients with preterm parturition and microbial invasion of the amniotic cavity. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2005;18:405-16

14. Faye-Petersen OM. The placenta in preterm birth. *J Clin Pathol* 2008;61:1261-75.
15. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet* 2008;371:75-84.
16. Heron M, Sutton PD, Xu J, Ventura SJ ve ark. Annual summary of vital statistics: 2007. *Pediatrics* 2010;125:4-15.
17. Slattery MM, Morrison JJ. Preterm delivery. *Lancet* 2002;360:1489-97.
18. Ananth CV, Joseph KS, Oyelese Y, Demissie K ve ark. Trends in preterm birth and perinatal mortality among singletons: United States, 1989 through 2000. *Obstet Gynecol* 2005;105:1084-91
19. Iams JD, Romero R. Preterm birth. Gabbe SG, Niebyl JR, Simpson JL, eds. *Obstetrics: normal pregnancies and problem pregnancies*. 5th ed. St. Louis: Churchill Livingstone 2007:668-712
20. Saigal S, Doyle LW. An overview of mortality and sequelae of preterm birth from infancy to adulthood. *Lancet* 2008;371:261-9
21. Ward RM, Beachy JC. Neonatal complications following preterm birth. *BJOG* 2003;110 Suppl 20:8-16.
22. Moutquin JM. Classification and heterogeneity of preterm birth *BJOG* 2003;110 Suppl 20:30-3
23. Meis PJ, Goldenberg RL, Mercer BM, Iams JD ve ark. The preterm prediction study: risk factors for indicated preterm births. *Am J Obstet Gynecol* 1998;178:562-7
24. Goldenberg RL, Cliver SP, Mulvihill FX, Hickey CA ve ark. Medical, psychosocial, and behavioral risk factors do not explain the increased risk for low birth weight among black women. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:1317-24.
25. Romero R, Chaiworapongsa T, Kuivaniemi H, Tromp G. Bacterial vaginosis, the inflammatory response and the risk of preterm birth: a role for genetic epidemiology in the prevention of preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2004;190:1509-19.
26. Berkowitz GS, Blackmore-Prince C, Lapinski RH, Savitz DA. Risk factors for preterm birth subtypes. *Epidemiology* 1998;9:279-85.
27. Torloni MR, Betrán AP, Daher S, Widmer M ve ark. Maternal BMI and preterm birth: a systematic review of the literature with meta-analysis. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2009;22:957-70.

28. Mercer BM, Goldenberg RL, Moawad AH, Meis PJ ve ark. The preterm prediction study: effect of gestational age and cause of preterm birth on subsequent obstetric outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:1216-21
29. Goldenberg RL, Andrews WW, Faye-Petersen O, Cliver S ve ark. The Alabama Preterm Birth Project: placental histology in recurrent spontaneous and indicated preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2006;195:792-6.
30. Gardner MO, Goldenberg RL, Cliver SP, Tucker JM ve ark. The origin and outcome of preterm twin pregnancies. *Obstet Gynecol* 1995;85:553-7.
31. Iannucci TA, Tomich PG, Gianopoulos JG. Etiology and outcome of extremely low-birth-weight infants. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:1896-902.
32. Iams JD, Romero R. Preterm birth. Gabbe SG, Niebyl JR, Simpson JL, eds. *Obstetrics: normal pregnancies and problem pregnancies*. 5th ed. St. Louis: Churchill Livingstone 2007:668-712
33. Jackson RA, Gibson KA, Wu YW, Croughan MS. Perinatal outcomes in singletons following in vitro fertilization: a meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2004; 103: 551-63.
34. Perri T, Chen R, Yoeli R, Merlob P ve ark. Are singleton assisted reproductive technology pregnancies at risk of prematurity? *J Assist Reprod Genet* 2001;18:245-49.
35. Bernasko J, Lynch L, Lapinski R, Berkowitz RL. Twin pregnancies conceived by assisted reproductive techniques: maternal and neonatal outcomes. *Obstet Gynecol* 1997;89:368-72.
36. Raga F, Bauset C, Remohi J, Bonilla-Musoles F ve ark. Reproductive impact of congenital mullerian anomalies. *Human Reproduction* 1997;12:2277-81.
37. Rackow BW, Arici A. Reproductive performance of women with mullerian anomalies. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2007;19:229-37
38. Hossain R, Harris T, Lohsoonthorn V, Williams MA. Risk of preterm delivery in relation to vaginal bleeding in early pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2007;135:158-63.
39. Yang J, Hartmann KE, Savitz DA, Herring AH ve ark. Vaginal bleeding during pregnancy and preterm birth. *Am J Epidemiol* 2004;160:118-25.

40. Chandra S, Scott H, Dodds L, Watts C ve ark. Unexplained elevated maternal serum alpha-fetoprotein and/or human chorionic gonadotropin and the risk of adverse outcomes. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189:775-81.
41. Shim SS, Romero R, Hong JS, Park CW ve ark. Clinical significance of intra-amniotic inflammation in patients with preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:1339-45.
42. Goldenberg RL, Culhane JF, Johnson DC. Maternal infection and adverse fetal and neonatal outcomes. *Clin Perinatol* 2005;32:523-59.
43. Romero R, Espinoza J, Kusanovic J, Gotsch F ve ark. The preterm parturition syndrome. *BJOG* 2006;113:17-42.
44. Salminen A, Paananen R, Vuolteenaho R, Metsola J ve ark. Maternal endotoxin-induced preterm birth in mice: fetal responses in toll-like receptors, collectins, and cytokines. *Pediatr Res* 2008;63:280-6.
45. Gomez R, Ghezzi F, Romero R, Munoz H ve ark. Premature labor and intra-amniotic infection. Clinical aspects and role of the cytokines in diagnosis and pathophysiology. *Clin Perinatol* 1995;22:281-342.
46. Fidel P, Ghezzi F, Romero R, Chaiworapongsa T ve ark. The effect of antibiotic therapy on intrauterine infection induced preterm parturition in rabbits. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2003;14:57-64.
47. Russell P. Inflammatory lesions of the human placenta. Clinical significance of acute chorioamnionitis. *Am J Diagn Gynecol Obstet* 1979;1:127-37.
48. Hillier SL, Krohn MA, Kiviat NB, Watts DH ve ark. Microbiologic causes and neonatal outcomes associated with chorioamnion infection. *Am J Obstet Gynecol* 1991;165:955-61.
49. Kim YM, Romero R, Chaiworapongsa T, Kim GJ ve ark. Toll-like receptor-2 and -4 in the chorioamniotic membranes in spontaneous labor at term and in preterm parturition that are associated with chorioamnionitis. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:1346-55.
50. Osman I, Young A, Jordan F, Greer IA ve ark. Leukocyte density and proinflammatory mediator expression in regional human fetal membranes and decidua before and during labor at term. *J Soc Gynecol Investig* 2006;13:97-103.

51. Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta. *Mol Cell* 2002;10: 417-26.
52. Romero R, Durum S, Dinarello CA, Oyarzun E ve ark. Interleukin-1 stimulates prostaglandin biosynthesis by human amnion. *Prostaglandins* 1989;37:13-22.
53. Romero R, Brody DT, Oyarzun E, Mazor M ve ark. Infection and labor. III. Interleukin-1: a signal for the onset of parturition. *Am J Obstet Gynecol* 1989;160:1117-23.
54. Romero R, Mazor M, Tartakovsky B. Systemic administration of interleukin-1 induces preterm parturition in mice. *Am J Obstet Gynecol* 1991;165:969-71.
55. Mohan MJ, Seaton T, Mitchell J, Howe A ve ark. The tumor necrosis factor-alpha converting enzyme (TACE): a unique metalloproteinase with highly defined substrate selectivity. *Biochemistry* 2002;41:9462-9.
56. Romero R, Mazor M, Manogue K, Oyarzun E ve ark. Human decidua: a source of cachectin-tumor necrosis factor. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1991;41:123-7.
57. Romero R, Manogue KR, Mitchell MD, Wu YK ve ark. Infection and labor. IV. Cachectin-tumor necrosis factor in the amniotic fluid of women with intraamniotic infection and preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 1989;161:336-41.
58. Fortunato SJ, Menon R, Lombardi SJ. Role of tumor necrosis factor- [alpha] in the premature rupture of membranes and preterm labor pathways. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187:1159-62.
59. Keelan JA, Blumenstein M, Helliwell RJA, Sato TA ve ark. Cytokines, prostaglandins and parturition- a review. *Placenta* 2003;17:33-46.
60. Olson DM. The role of prostaglandins in the initiation of parturition. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2003;17:717-30.
61. Brodt-Eppley J, Myatt L. Prostaglandin receptors in lower segment myometrium during gestation and labor. *Obstet Gynecol* 1999;93:89-93.
62. Cook JL, Shallow MC, Zaragoza DB, Anderson KI ve ark. Mouse placental prostaglandins are associated with uterine activation and the timing of birth. *Biol Reprod* 2003;68:579-87.

63. Hirst JJ, Teixeira FJ, Zakar T, Olson DM. Prostaglandin endoperoxide-H synthase-1 and -2 messenger ribonucleic acid levels in human amnion with spontaneous labor onset. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:517-23.
64. Kniss DA, Zimmerman PD, Garver CL, Fertel RH. Interleukin-1 receptor antagonist blocks interleukin-1-induced expression of cyclooxygenase-2 in endometrium. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:559-67.
65. Molnar M, Romero R, Hertelendy F. Interleukin-1 and tumor necrosis factor stimulate arachidonic acid release and phospholipid metabolism in human myometrial cells. *Am J Obstet Gynecol* 1993;169:825-29.
66. Pomini F, Caruso A, Challis JR. Interleukin-10 modifies the effects of interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha on the activity and expression of prostaglandin H synthase-2 and the NAD⁺-dependent 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase in cultured term human villous trophoblast and chorion trophoblast cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:4645-51.
67. Zaragoza DB, Wilson RR, Mitchell BF, Olson DM. The interleukin 1beta-induced expression of human prostaglandin F2alpha receptor messenger RNA in human myometrial-derived ULTR cells requires the transcription factor, NFkappaB. *Biol Reprod* 2006;75:697-704.
68. Arias F, Rodriguez L, Rayne SC, Kraus FT. Maternal placental vasculopathy and infection: two distinct subgroups among patients with preterm labor and preterm rupture membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1993;168:585-91.
69. Nagy S, Bush M, Stone J, Lapinski RH ve ark. Clinical significance of subchorionic and retroplacental hematomas detected in the first trimester of pregnancy. *Obstet Gynecol* 2003;102:94-100.
70. Elovitz MA, Saunders T, Ascher-Landsberg J, Phillippe M. Effects of thrombin on myometrial contractions in vitro and in vivo. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:799-804.
71. Rosen T, Kuczynski E, O'Neill LM, Funai EF ve ark. Plasma levels of thrombin-antithrombin complexes predict preterm premature rupture of the fetal membranes. *J Matern Fetal Med* 2001;10:297-300.

72. Maradny EE, Kanayama N, Halim A, Maehara K ve ark. Stretching of fetal membranes increases the concentration of interleukin-8 and collagenase activity. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:843-9.
73. Kanayama N, Fukamizu H. Mechanical stretching increases prostaglandin E2 in cultured human amnion cells. *Gynecol Obstet Invest* 1989;28:123-6.
74. Sennstrom MK, Brauner A, Lu Y, Granstrom LM ve ark. Interleukin-8 is a mediator of the final cervical ripening in humans. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1997;74:89-92.
75. Ekerhovd E, Weijdegard B, Brannstrom M, Mattsby-Baltzer I ve ark. Nitric oxide induced cervical ripening in the human: involvement of cyclic guanosine monophosphate, prostaglandin F(2 alpha), and prostaglandin E(2). *Am J Obstet Gynecol* 2002;186:745-50.
76. Rudolph MI, Reinicke K, Cruz MA, Gallardo V ve ark. Distribution of mast cells and the effect of their mediators on contractility in human myometrium. *Br J Obstet Gynaecol* 1993;100:1125-30.
77. Bytautiene E, Romero R, Vedernikov YP, El-Zeky F ve ark. Induction of premature labor and delivery by allergic reaction and prevention by histamine H1 receptor antagonist. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:1356-61.
78. Norman JE. Preterm labour. Cervical function and prematurity *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2007;21:791-806
79. Romero R, Espinoza J, Erez O, Hassan S. The role of cervical cerclage in obstetric practice: can the patient who could benefit from this procedure be identified? *Am J Obstet Gynecol* 2006;194:1-9.
80. Hardy DB, Janowski BA, Corey DR, Mendelson CR. Progesterone receptor plays a major antiinflammatory role in human myometrial cells by antagonism of nuclear factor-kappaB activation of cyclooxygenase 2 expression. *Mol Endocrinol* 2006;20:2724-33.
81. Condon JC, Hardy DB, Kovaric K, Mendelson CR. Up-regulation of the progesterone receptor (PR)-C isoform in laboring myometrium by activation of nuclear factor-kappaB may contribute to the onset of labor through inhibition of PR function. *Mol Endocrinol* 2006;20:764-75

82. Stjernholm Y, Sahlin L, Akerberg S, Elinder A ve ark. Cervical ripening in humans: potential roles of estrogen, progesterone, and insulin-like growth factor-I. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:1065-71.,
83. Fidel PI Jr, Romero R, Maymon E, Hertelendy F. Bacteria-induced or bacterial product-induced preterm parturition in mice and rabbits is preceded by a significant fall in serum progesterone concentrations. *J Matern Fetal Med* 1998;7:222-6.
84. Allport VC, Pieber D, Slater DM, Newton R ve ark. Human labour is associated with nuclear factor-kappaB activity which mediates cyclo-oxygenase-2 expression and is involved with the 'functional progesterone withdrawal'. *Mol Hum Reprod* 2001;7:581-6.
85. Meis PJ, KlebanoffM, Thorn E, Dombrowski MP ve ark. National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. Prevention of recurrent preterm delivery by 17 alpha- hydroxyprogesterone caproate. *N Engl J Med* 2003;348:2379-85.
86. da Fonseca EB, Bittar RE, Carvalho MH, Zugaib M. Prophylactic administration of progesterone by vaginal suppository to reduce the incidence of spontaneous preterm birth in women at increased risk: a randomized placebo-controlled double-blind study. *Am J Obstet Gynecol* 2003;188:419-24.
87. Hobel CJ. Stress and preterm birth. *Clin Obstet Gynecol* 2004;47:856-80.
88. Hobel CJ, Dunkel-Schetter C, Roesch SC, Castro LC ve ark. Maternal plasma corticotropin-releasing hormone associated with stress at 20 weeks' gestation in pregnancies ending in preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:257-63.
89. Lue H, Kleemann R, Calandra T, Roger T ve ark. Macrophage migration inhibitory factor (MIF): mechanisms of action and role in disease. *Microbes Infect* 2002;4:449-60
90. Bernhagen J, Bacher M, Calandra T, Metz CN ve ark. An essential role for macrophage migration inhibitory factor in the tuberculin delayed-type hypersensitivity reaction. *J Exp Med* 1996;183:277-82
91. Beishuizen A, Thijs LG, Haanen C, Haanen C ve ark. Macrophage migration inhibitory factor and hypothalamo-pituitary-adrenal function during critical illness. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:2811-16

92. Bach JP, Rinn B, Meyer B, Dodel R ve ark. Role of MIF in Inflammation and Tumorigenesis. *Oncology* 2008;75:127-33
93. Roger T, David J, Glauser MP, Calandra T. MIF regulates innate immune responses through modulation of Toll-like receptor 4. *Nature* 2001;414:920-4
94. Bacher M, Metz CN, Calandra T, Mayer K ve ark: An essential regulatory role for macrophage migration inhibitory factor in T-cell activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:7849-54
95. Abe R, Peng T, Sailors J, Bucala R ve ark. Regulation of the CTL response by macrophage migration inhibitory factor. *J Immunol* 2001;166:747-53
96. Roger T, Chanson AL, Knaup-Reymond M, Calandra T. Macrophage migration inhibitory factor promotes innate immune responses by suppressing glucocorticoid-induced expression of mitogen-activated protein kinase phosphatase-1. *Eur J Immunol* 2005;35:3405-13
97. Vigano P, Cintonino M, Schatz F, Lockwood CJ ve ark. The role of macrophage migration inhibitory factor in maintaining the immune privilege at the fetal–maternal interface. *Semin Immunopathol* 2007;29:135-150
98. Wada S, Fujimoto S, Mizue Y, Nishihira J. Macrophage migration inhibitory factor in the human ovary: presence in the follicular fluids and production by granulosa cells. *Biochem Mol Biol Int* 1997;41:805-14
99. Matsuura T, Sugimura M, Iwaki T, Ohashi R ve ark. Anti-macrophage inhibitory factor antibody inhibits PMSG-hCG-induced follicular growth and ovulation in mice. *J Assist Reprod Genet* 2002;19:591-5
100. Kats R, Al-Akoum M, Guay S, Metz C ve ark. Cycledependent expression of macrophage migration inhibitory factor in the human endometrium. *Hum Reprod* 2005;20:3518-25
101. Yang Y, Degranpre P, Kharfi A, Akoum A. Identification of macrophage migration inhibitory factor as a potent endothelial cell growth-promoting agent released by ectopic human endometrial cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:4721-7
102. Kats R, Collette T, Metz CN, Akoum A. Marked elevation of macrophage migration inhibitory factor in the peritoneal fluid of women with endometriosis. *Fertil Steril* 2002;78:69-76

103. Morin M, Bellehumeur C, Therriault MJ, Metz C ve ark. Elevated levels of macrophage migration inhibitory factor in the peripheral blood of women with endometriosis. *Fertil Steril* 2005;83:865-72
104. Akoum A, Metz CN, Al-Akoum M, Kats R. Macrophage migration inhibitory factor expression in the intrauterine endometrium of women with endometriosis varies with disease stage, infertility status, and pelvic pain. *Fertil Steril* 2006;85:1379-85
105. Mahutte NG, Matalliotakis IM, Goumenou AG, Koumantakis GE ve ark. Elevations in peritoneal fluid macrophage migration inhibitory factor are independent of the depth of invasion or stage of endometriosis. *Fertil Steril* 2004;82:97-101
106. Yamada H, Kato EH, Morikawa M, Shimada S ve ark. Decreased serum levels of macrophage migration inhibition factor in miscarriages with normal chromosome karyotype. *Hum Reprod* 2003;18:616-20
107. Ietta F, Todros T, Ticconi C, Piccoli E ve ark. Macrophage migration inhibitory factor in human pregnancy and labor. *Am J Reprod Immunol* 2002;48:404-9
108. Chaiworapongsa T, Romero R, Espinoza J, Kim YM ve ark. Macrophage migration inhibitory factor in patients with preterm parturition and microbial invasion of the amniotic cavity. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2005;18:405-16
109. Ietta F, Wu Y, Romagnoli R, Soleymanlou N ve ark. Oxygen regulation of macrophage migration inhibitory factor in human placenta. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007;292:272-80
110. Zicari A, Ticconi C, Ietta F, Belmonte A ve ark. Macrophage migration inhibitory factor-nitric oxide interaction in human fetal membranes at term pregnancy. *J Soc Gynecol Investig* 2006;13:263-70
111. Yamada H, Kato EH, Morikawa M, Shimada S ve ark. Decreased serum levels of macrophage migration inhibition factor in miscarriages with normal chromosome karyotype. *Hum Reprod* 2003;18:616-20
112. Hristoskova S, Holzgreve W, Zhong XY, Hahn S. Macrophage migration inhibition factor is elevated in pregnancy, but not to a greater extent in preeclampsia. *Arch Gynecol Obstet* 2006;274:25-8

113. Elovitz MA, Mrinalini C. Animal models of preterm birth. *Trends Endocrinol Metab* 2004;15:479-87
114. Mijovic JE, Zakar T, Zaragoza DB, Olson DM. Tyrphostins inhibit lipopolysaccharide induced preterm labor in mice. *J Perinat Med* 2002;30:297-300.
115. Kaga N, Katsuki Y, Obata M, Shibutani Y. Repeated administration of low-dose lipopolysaccharide induces preterm delivery in mice: a model for human preterm parturition and for assessment of the therapeutic ability of drugs against preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:754-9
116. Mohan AR, Loudon JA, Bennett PR. Molecular and biochemical mechanisms of preterm labour *Semin Fetal Neonatal Med* 2004;9:437-44.
117. Thomson AJ, Telfer JF, Young A, Campbell S ve ark. Leukocytes infiltrate the myometrium during human parturition: further evidence that labour is an inflammatory process. *Hum Reprod* 1999;14:229-36.
118. King J, Flenady V. Prophylactic antibiotics for inhibiting preterm labour with intact membranes. *Cochrane Database Syst Rev* 2002;4:CD000246.
119. Steel JH, Malatos S, Kennea N, Edwards AD ve ark. Bacteria and inflammatory cells in fetal membranes do not always cause preterm labor. *Pediatr Res* 2005;57:404-11.
120. Fortunato SJ, Menon RP, Swan KF, Menon R. Inflammatory cytokine (interleukins 1, 6 and 8 and tumor necrosis factor-alpha) release from cultured human fetal membranes in response to endotoxic lipopolysaccharide mirrors amniotic fluid concentrations. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:1855-61
121. Otsuki K, Yakuwa K, Sawada M, Hasegawa A ve ark. Recombinant human lactoferrin has preventive effects on lipopolysaccharide-induced preterm delivery and production of inflammatory cytokines in mice. *J Perinat Med* 2005;33:320-3.
122. Paintlia MK, Paintlia AS, Singh AK, Singh I. Attenuation of lipopolysaccharide-induced inflammatory response and phospholipids metabolism at the fetomaternal interface by N-acetyl cysteine. *Pediatr Res* 2008;64:334-9.
123. Sakai M, Tanebe K, Sasaki Y, Momma K ve ark. Evaluation of the tocolytic effect of a selective cyclooxygenase-2 inhibitor in a mouse model of lipopolysaccharide-induced preterm delivery. *Mol Hum Reprod* 2001;7:595-602.

124. Holmgren C, Esplin MS, Hamblin S, Molenda M ve ark. Evaluation of the use of anti-TNF- α in an LPS-induced murine model. *J Reprod Immunol* 2008;78:134-9
125. Hirsch E, Filipovich Y, Mahendroo M. Signaling via the type I IL-1 and TNF receptors is necessary for bacterially induced preterm labor in a murine model. *Am J Obstet Gynecol* 2006;194:1334-40.
126. Fidel PL, Romero R, Cutright J, Wolf N ve ark. Treatment with the interleukin-1 receptor antagonist and soluble tumor necrosis factor receptor Fc fusion protein does not prevent endotoxin-induced preterm parturition in mice. *J Soc Gynecol Investig* 1997;4:22-6.
127. Robertson SA, Skinner RJ, Care AS. Essential role for IL-10 in resistance to lipopolysaccharide-induced preterm labor in mice. *J Immunol* 2006;177:4888-96.
128. Pearce BD, Grove J, Bonney EA, Bliwise N ve ark. Interrelationship of cytokines, hypothalamic-pituitary-adrenal axis hormones, and psychosocial variables in the prediction of preterm birth. *Gynecol Obstet Invest* 2010;70:40-6.
129. Calandra T, Echtenacher B, Roy DL, Pugin J ve ark. Protection from septic shock by neutralization of macrophage migration inhibitory factor. *Nat Med* 2000;6:164-70
130. Calandra T, Spiegel LA, Metz CN, Bucala R. Macrophage migration inhibitory factor is a critical mediator of the activation of immune cells by exotoxins of Gram-positive bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:11383-8.
131. Makita H, Nishimura M, Miyamoto K, Nakano T ve ark. Effect of anti-macrophage migration inhibitory factor antibody on lipopolysaccharide-induced pulmonary neutrophil accumulation. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:573-9.
132. Burger-Kentischer A, Gobel H, Kleemann R, Zerneck A ve ark. Reduction of the aortic inflammatory response in spontaneous atherosclerosis by blockade of macrophage migration inhibitory factor (MIF). *J Atheroscler Res* 2006;184:28-38.
133. Lan HY, Bacher M, Yang N, Mu W ve ark. The pathogenic role of macrophage migration inhibitory factor in immunologically induced kidney disease in the rat. *J Exp Med* 1997;185:1455-65.
134. Santos L, Hall P, Metz C, Bucala R ve ark. Role of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in murine antigen-induced arthritis: interaction with glucocorticoids. *Clin Exp Immunol* 2001;123:309-14.

135. Denkinger CM, Denkinger M, Kort JJ, Metz C ve ark. In vivo blockade of macrophage migration inhibitory factor ameliorates acute experimental autoimmune encephalomyelitis by impairing the homing of encephalitogenic T cells to the central nervous system. *J Immunol* 2003;170:1274-82.
136. Cvetkovic I, Al-Abed Y, Miljkovic D, Maksimovic-Ivanic D ve ark. Critical role of macrophage migration inhibitory factor activity in experimental autoimmune diabetes. *Endocrinology* 2005;146:2942-51.
137. Matsui Y, Okamoto H, Jia N, Akino M ve ark. Blockade of macrophage migration inhibitory factor ameliorates experimental autoimmune myocarditis. *J Mol Cell Cardiol* 2004;37:557-66.

