

MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ



**TIPTA UZMANLIK TEZİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANA BİLİM DALI**

**PRETERM PREMATÜR MEMBRAN RÜPTÜRÜ TANILI GEBELERİN
MATERNAL KANDA BİYOKİMYASAL DEĞİŞİKLİKLERİN YANISIRA
PLASENTA VE AMNİON ZARINDA HİSTOLOJİK DEĞİŞİKLİKLERİN
İNCELENMESİ**

Dr. Zulfiyya HEYDARLI

**1. TEZ DANIŞMANI: Dr. Öğr. Üyesi Kemal SARMAZ
2. TEZ DANIŞMANI: Dr. Öğr. Üyesi Hayrunnisa YEŞİL SARMAZ**

MANİSA, 2025

MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKULTESİ



**TIPTA UZMANLIK TEZİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANA BİLİM DALI**

**PRETERM PREMATÜR MEMBRAN RÜPTÜRÜ TANILI GEBELERİN
MATERNAL KANDA BİYOKİMYASAL DEĞİŞİKLİKLERİN YANISIRA
PLASENTA VE AMNİON ZARINDA HİSTOLOJİK DEĞİŞİKLİKLERİN
İNCELENMESİ**

Dr. Zulfiyya HEYDARLI

**1. TEZ DANIŞMANI: Dr. Öğr. Üyesi Kemal SARMAZ
2. TEZ DANIŞMANI: Dr. Öğr. Üyesi Hayrunnisa YEŞİL SARMAZ**

MANİSA, 2025

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanma sürecinde bana her türlü destek olan, araştırma aşamalarındaki yaklaşımlarıyla bana örnek olan, mesleki alanda farklı yaklaşımlarıyla bize eğitim ve becerilerimizde yol gösteren, kıymetli tez hocam Dr.Öğr.Üyesi Kemal SARSMAN'a;

Eğitimimize her anlamda katkı sağlayan, mesleki bilgi ve tecrübelerini bizden esirgemeyen, bize güvenerek farklı alanlarda gelişmemizi sağlayan değerli hocalarım Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Naci Kemal KUŞÇU'ya, Prof.Dr. Semra ORUÇ'a, Prof.Dr. Tevfik GÜVENAL'a, Prof.Dr. Hasan Tayfun ÖZÇAKIR'a, Prof.Dr. Yıldız UYAR'a, Prof.Dr. Aslı GÖKER'e, Prof.Dr. Burcu ARTUNÇ ÜLKÜMEN'e, Prof.Dr. Pınar Solmaz HASDEMİR'e teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Tez sürecimde büyük katkıları olan, her türlü emek ve gayretini esirgemeyen değerli 2.Tez Danışmanı hocam Dr.Öğr.Üyesi Hayrunnisa YEŞİL SARSMAN'a teşekkür ederim.

Tez sürecimde desteğinden dolayı değerli hocam Prof.Dr. Seren Gülşen GÜRGEN'e teşekkür ederim.

Bilgi ve becerisini bizimle paylaşan, mesai saatleri dışında bile özveriyle desteğini esirgemeyen değerli uzmanımız Op.Dr. Şeyma IŞIK'a teşekkür ederim.

Zorlu asistanlık sürecinde her şeyi paylaştığımız , nice sıkıntıların birlikte üstesinden gelerek yol aldığımız asistan arkadaşlarım, servis, ameliyathane, poliklinik hemşire ve personel ekibine teşekkür ederim.

Benim tüm eğitim sürecim boyunca maddi manevi yanımda olan, bıkmadan usanmadan beni cesaretlendiren, asla haklarını ödeyemeyeceğim canım annem ve babam Zenfira ve Üzeyir HEYDAROV'a, abim Heydar HEYDARLI'ye teşekkür ederim. Varlığıyla gücüme güç katan, asistanlığa başladığımdan beri sürecimi en iyi anlayan ve bana destek olan en büyük destekçim, yol gösterenim, her başarımda payı olan çok değerli sevgili eşim Vusal NAJAFALİYEV'e çok teşekkür ederim.

Dr. Zulfıyya HEYDARLI

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
KISALTMALAR.....	III
ŞEKİL LİSTESİ.....	V
TABLO LİSTESİ.....	VI
GRAFİKLER.....	VII
ÖZET.....	VIII
ABSTRACT.....	IX
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1 FETAL MEMBRAN PATOFİZYOLOJİSİ.....	2
2.2 AMNİYOTİK SIVI.....	3
2.3 PRETERM ERKEN MEMBRAN RÜPTÜRÜ.....	4
2.3.1 TANIM VE İNSİDANS.....	4
2.3.2 ETYOPATOLOJİ.....	4
2.3.3 RİSK FAKTÖRLERİ.....	5
2.3.4 TANI.....	5
2.3.5 YÖNETİM VE TEDAVİ.....	6
2.3.6 KOMPLİKASYONLAR.....	6
2.4 SYNDECAN.....	7
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	9
4. BULGULAR.....	13
5. TARTIŞMA.....	23
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	29
7. KAYNAKLAR.....	31

KISALTMALAR

AFI: Amniyotik sıvı indeksi

AFV: Amniyotik sıvı hacmi

CL: Servikal uzunluk

CRP: C Reaktif Protein

DR3: Ölüm reseptörü-3

EVT: Extravillöz trofoblast

FGR: Fetal gelişim geriliği

GBP5: Guanilat bağlayıcı protein-5

GBS: Grup b streptokok

GDM: Gestasyonel diabetes mellitus

HB: Hemoglobin

HELLP: Hemoliz, yüksek karaciğer enzimleri ve düşük trombosit düzeyi

HSPG: Heparan sülfat proteoglikan

IGFBP-1: İnsulin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein - 1

IL-6: İnterlökin-6

JAR: İnsan plasental koryokarsinom hücrelerinden türetilmiş bir trofoblast benzeri hücre hattıdır.

LIF: Lösemi inhibitör faktörü

MMP-1: Matriks metalloproteinaz -1

NPV: Negatif prediktif değer

PAMG-1: Plasental alfa mikro globulin- 1

PCT: Prokalsitonin

PG: Proteoglikan

PIGF: Plasental büyüme faktörü

PLT: Trombosit

PPROM: Preterm Prematür Membran Ruptürü

PPV: Pozitif prediktif değer

ROM: Membran ruptürü

SDC: Syndecan

SGA: Gebelik yaşına göre küçük

SLE: Sistemik lupus eritematozus

TGF- β : Transforme edici büyüme faktörü-beta

TIMP-1: Metalloproteinaz doku inhibitörü - 1

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

VKI: Vücut kitle indeksi

WBC: Lökosit



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Fetal membran yapısı.....	3
Şekil 2. Amniyotik sıvı akış şeması.....	4
Şekil 3. Syndecan genel yapısı.....	7
Şekil 3. Term plasentada sdc 1 immunohistokimya boyaması.....	18
Şekil 4. Term plasentada sdc 2 immunohistokimya boyaması.....	19
Şekil 5. Term plasentada sdc 3 immunohistokimya boyaması.....	19
Şekil 6. Term plasentada sdc 4 immunohistokimya boyaması.....	20
Şekil 7. Sdc 1 immunohistokimya boyası ile boyanmış insan amniyotik membran yapısı.....	20
Şekil 8. Sdc 2 immunohistokimya boyası ile boyanmış insan amniyotik membran yapısı.....	21
Şekil 9. Sdc 3 immunohistokimya boyası ile boyanmış insan amniyotik membran yapısı.....	21
Şekil 10. Sdc 4 immunohistokimya boyası ile boyanmış insan amniyotik membran yapısı	22

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Sdc 1 , sdc 2, sdc 3, sdc 4 fonksiyonları.....	8
Tablo 2. İmmünohistokimya protokolü.....	11
Tablo 3. PPRROM ve kontrol gruplarının demografik, obstetrik, neonatal bulgularının karşılaştırılması.....	13
Tablo 4. PPRROM ve kontrol gruplarının hematolojik parametrelerinin karşılaştırılması..	14
Tablo 5. PPRROM olgularında su geliş haftasına ilişkin tanımlayıcı istatistikler.....	14
Tablo 6. PPRROM ve kontrol gruplarının obstetrik ve neonatal özelliklerine göre karşılaştırılması (kategorik değişkenler).....	15
Tablo 7. Gruplar arasında term plasenta sdc 1, sdc 2, sdc 3, sdc 4 immünohistokimya boyama sonuçları açısından ort±sd değerleri.....	16
Tablo 8. Gruplar arasında amniyon zarı sdc 1, sdc 2, sdc 3, sdc 4 immünohistokimya boyama sonuçları açısından ort±sd değerleri.....	17
Tablo 9. Gruplar arasında anne kanı sdc 1, sdc 2, sdc 3, sdc 4 biyokimya sonuçları açısından ort±sd değerleri.....	22

GRAFİKLER

Grafik 1. Gruplar arasında term plasenta sdc 1, sdc 2, sdc 3, sdc 4 immünohistokimya boyama sonuçları için morfolometrik veriler.....	16
Grafik 2. Gruplar arasında amniyon zarı sdc 1, sdc 2, sdc 3, sdc 4 biyokimya sonuçları için morfolometrik veriler.....	17
Grafik 3. Gruplar arasında anne kanı sdc 1, sdc 2, sdc 3, sdc 4 biyokimya sonuçları için morfolometrik veriler.	23



ÖZET

PRETERM PREMATÜR MEMBRAN RÜPTÜRÜ TANILI GEBELERİN MATERNAL KANDA BİYOKİMYASAL DEĞİŞİKLİKLERİN YANISIRA PLASENTA VE AMNİYON ZARINDA HİSTOLOJİK DEĞİŞİKLİKLERİN İNCELENMESİ

Amaç: Bu çalışmanın amacı, maternal serumda, amniyon zarında ve plasentada bulunan syndecan düzeyleri ile preterm prematür membran rüptürü (PPROM) arasındaki ilişkinin biyokimyasal ve histolojik olarak araştırılmasıdır. Ayrıca elde edilen bulguların, PPRM ve buna bağlı komplikasyonların önlenmesine yönelik gelecekteki çalışmalara temel oluşturabileceği öngörülmektedir.

Gereç ve Yöntem: Araştırma, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Servisi'nde 2023–2024 yılları arasında yürütülmüştür. Etik kurul onayı alınmış, tüm katılımcılardan bilgilendirilmiş onam formları temin edilmiştir. Çalışmaya PPRM tanılı ve ek obstetrik patolojisi bulunmayan 14 gebe ile benzer demografik özelliklere sahip 22 sağlıklı gebe dahil edilmiştir. Katılımcılardan alınan venöz kan örneklerinden serum ayrılarak syndecan 1, 2, 3 ve 4 düzeyleri ELISA yöntemiyle ölçülmüştür. Ayrıca, plasenta ve amniyon zarından alınan dokularda aynı biyomarkerların immünohistokimyasal ekspresyonları değerlendirilmiştir. Veriler gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

Bulgular: PPRM grubunda ortalama yaş, VKİ, parite, doğum haftası ve bebek doğum ağırlığı kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p < 0,01$). WBC ve CRP düzeyleri PPRM grubunda anlamlı olarak yüksek saptanmıştır ($p = 0,003$ ve $p = 0,022$), hemoglobin, trombosit sayısı ve sigara kullanımı açısından fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$). İmmünohistokimyasal incelemelerde PPRM grubunda syndecan 1, 2, 3 ve 4 ekspresyonlarının plasenta ve amniyon dokularında belirgin şekilde azaldığı görülmüş; serum düzeyleri de benzer biçimde anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p < 0,001$).

Sonuç: Bulgular, PPRM olgularında syndecan (sdc) ailesine ait proteoglikanların azalmasının hücre dışı matriks bütünlüğü ve epitel bariyer fonksiyonlarını zayıflatarak zarların erken yırtılmasına katkıda bulunabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Amniyon zarı, Plasenta, Preterm Prematür Membran Rüptürü, Proteoglikan, Syndecan

ABSTRACT

INVESTIGATION OF BIOCHEMICAL CHANGES IN MATERNAL BLOOD AS WELL AS HISTOLOGICAL CHANGES IN THE PLACENTA AND AMNIOTIC MEMBRANE OF PREGNANT WOMEN DIAGNOSED WITH PRETERM PREMATURE RUPTURE OF MEMBRANES

Aim: This study aimed to investigate the biochemical and histological relationship between maternal serum, amniotic membrane, and placental syndecan levels and preterm premature rupture of membranes (PPROM). It is further anticipated that the findings may provide a foundation for future research focused on preventing PPRM and its related complications.

Materials and Methods: The study was conducted at the Department of Obstetrics and Gynecology, Manisa Celal Bayar University, between 2023 and 2024, after obtaining ethics committee approval and informed consent from all participants. Fourteen pregnant women diagnosed with PPRM without additional obstetric pathology and twenty-two healthy pregnant women with similar demographic characteristics were included. Venous blood samples were collected, and serum levels of syndecan 1, 2, 3 and 4 were analyzed using the ELISA method. Placental and amniotic membrane tissue samples were also obtained, and the immunohistochemical expression of the same biomarkers was evaluated. Data were statistically compared between groups.

Results: The PPRM group had significantly lower mean maternal age, BMI, parity, gestational age, and neonatal birth weight compared with the control group (all $p < 0.01$). WBC and CRP levels were significantly higher in the PPRM group ($p = 0.003$ and $p = 0.022$), whereas hemoglobin level, platelet count, and smoking status showed no significant differences ($p > 0.05$). Immunohistochemical analysis demonstrated weaker expression syndecan 1, 2, 3 and 4 in the placental and amniotic tissues of the PPRM group. Similarly, maternal serum levels of all syndecan isoforms were markedly reduced compared to controls ($p < 0.001$).

Conclusion: The decreased expression of syndecan family proteoglycans in PPRM may weaken extracellular matrix integrity and epithelial barrier function, thereby contributing to premature rupture of fetal membranes.

Keywords: Amniotic membrane; Placenta; Preterm Prelabor Rupture of Membranes; Proteoglycan; Syndecan.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Preterm prematür membran rüptürü (PPROM), 37. gebelik haftasından önce amniyotik membranların kendiliğinden yırtılması durumudur. PPRÖM, tüm gebeliklerin yaklaşık %3'ünden ve erken doğumların yaklaşık üçte birinden sorumlu olmaktadır (1). Kendiliğinden gelişen PPRÖM'un patogenezi tam olarak aydınlatılamamış olsa da, risk faktörü multifaktöryeldir.

Amniyotik membran, fetus için hem mekanik hem de immünolojik bir bariyer işlevi görmektedir. Bu membranın rüptüre olması durumunda; enfeksiyon, prematürite ve oligohidroamnios başta olmak üzere hem anne hem de fetus için ciddi komplikasyonlar gelişebilmektedir. Tanı genellikle hastanın öyküsü ve vajinal muayenede amniyon sıvısı akışının gözlemlenmesiyle konmaktadır. Ancak aktif sıvı akışının net olarak izlenemediği şüpheli olgularda, yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip tanı yöntemleri tercih edilmektedir. Bu yöntemler arasında vajinal sıvıda PAMG-1 (plasental alfa mikroglobulin-1) düzeyine bakılan ROM testi ve IGFBP-1 düzeyine bakılan Actim PROM testi yer almaktadır (20).

Proteoglikanlar (PG), bir ana protein çekirdeği ile en az bir negatif yüklü glikozaminoglikan (GAG) yan zincirinden oluşan makromoleküllerdir. Hücre dışı matrikste çeşitli fonksiyonlar üstlenirler ve plasentada yüksek düzeyde ifade edilmektedir. Plasentada gözlenen belirgin PG türlerinden biri heparan sülfat proteoglikanlardır (HSPG). Syndecanlar (sdc), plasentada bulunan başlıca HSPG türünü oluşturmaktadır. Hücre membranına bağlı transmembran proteoglikanlar olan syndecan'ların dört tipi tanımlanmaktadır (sdc 1, sdc 2, sdc 3, sdc 4). Bu moleküller, heparan sülfat ve kondroitin sülfat zincirleri içermeleri sayesinde; vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF- β) ve fibronektin gibi birçok ligandla özgül etkileşimler kurmaktadır. Böylece hücre proliferasyonu, migrasyonu, anjiyogenez, koagülasyon ve inflamasyon gibi pek çok fizyolojik süreçte önemli rolleri üstlenmektedirler (34, 35, 36).

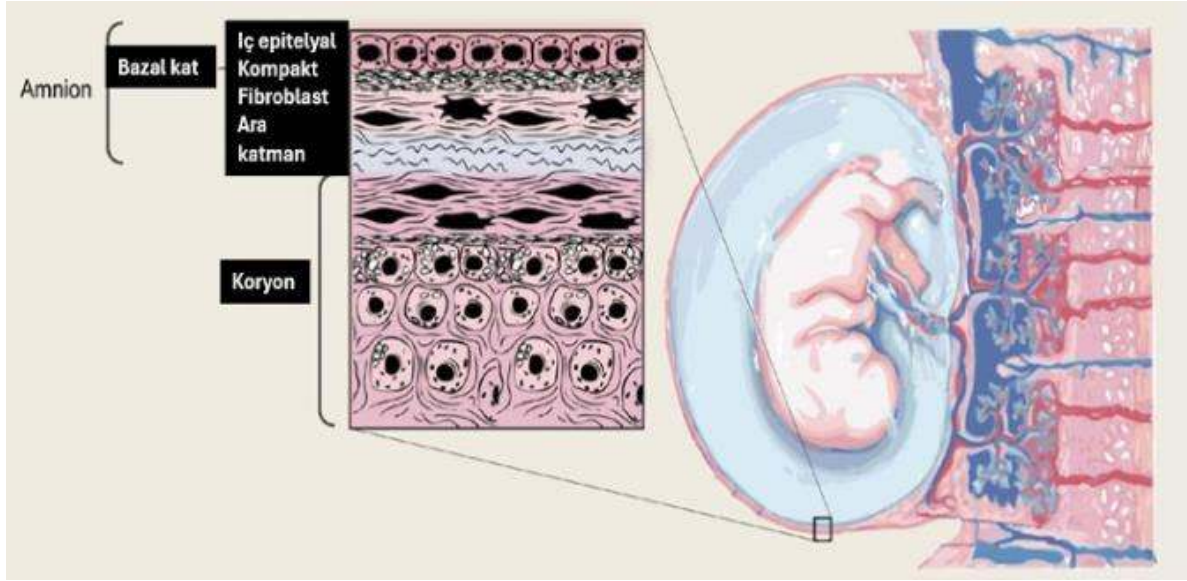
AMAÇ

Bu çalışmanın amacı, maternal serumda, amniyon zarında ve plasentada bulunan syndecan düzeyleri ile preterm premature membran rüptürü (PPROM) arasındaki ilişkinin biyokimyasal ve histolojik olarak araştırılmasıdır. Elde edilen bulguların, PPRÖM'un patofizyolojisinin daha iyi anlaşılmasına ve bu duruma bağlı gelişebilecek komplikasyonların önlenmesine yönelik gelecekteki çalışmalara katkı sağlaması hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. FETAL MEMBRAN PATOFİZYOLOJİSİ

İntrauterin fetal membranlar implante olan blastokistin trofoblastları tarafından oluşturulmaktadır. Fetüsü ve amniyon sıvısını çevreleyen içten ektoderm kökenli amniyon, dıştan mezoderm kökenli koryon zarlarından ibaret olmaktadır (2). Koryonu oluşturan hücreler blastokist oluşumundan hemen sonra, amniyon zarını oluşturan hücreler ise 7-8. günlerde ortaya çıkmaktadır. Başlangıç evrede amniyon zarı koryon zarından koryonik sıvı ile ayrılırken, 14. gebelik haftasından sonra kollajenden zengin amniyon rejenerasyonunu sağlayan bir bağ doku tabakasıyla bu iki membran birleşmektedir. Dıştaki koryonik membran kalın bir tabakadır ve amniyon zarı ile desidua arasında yer almaktadır. Dışta retiküler, içte sitotrofoblastik tabaka olmak üzere iki tabakadan oluşmaktadır. İç katman olan amniyon zarı 0,02-0,5 mm inceliğinde yarı saydam bir tabaka olup, damar ve sinir içermemektedir (3). İçten dışa doğru 5 katmandan ibarettir: iç epitelyal, bazal, kompakt, fibroblast ve ara katman (Şekil 1). Amniyotik membranın innervasyonu ve vaskülarizasyonu olmadığı için gerekli besin ile oksijeni koryondan, amniyotik sıvıdan ve fetal yüzey damarlarından almaktadır (4). Amniyon zarı esnek yapısı ile fetal membranların mukavemetini sağlamaktadır. Bu sebeple ilerleyen gebelik haftalarında rüptüre karşı olan dayanıklılık sağlamaktadır. Amniyotik membran anti-enflamatuar, anti-bakteriyel, anti-viral ve immünolojik özelliklerin yanı sıra anti-anjiyojenik ve pro-apoptotik özelliklere sahip olmaktadır (4). Amniyotik epitel metabolik olarak oldukça aktiftir ve üzerinde karbonik anhidraz izoenzimleri CA-1 ve CA-2 mevcuttur. Bikarbonat/karbondioksit metabolizmasında yer alan bu enzimin, amniyotik sıvının pH'ını sabit tutmada düzenleyici bir role sahip olduğu düşünülmektedir (5). Amniyotik epitelin apikal yüzeyinde oldukça gelişmiş mikrovilluslar vardır. Bu yapılar sayesinde amniyon sıvısı ile amniyon arasında transfer sağlanır ve doku inhibitörü matriks metalloproteinaz -1 (TIMP-1), prostaglandin E2 ve fetal fibronektin salgılanmaktadır. Fetal fibronektin, matriks metalloproteinaz-1 (MMP-1) sentezini uyarıp kollajenlerin dayanıklılığını azaltmakta ve prostaglandin sentezi ile uterusun kontraksiyonları ve servikal açılmayı tetiklemektedir. Metalloproteinazlar ise serviksi gevşetip yumuşatarak fetal membranların rüptürüne neden olmaktadır. Bu yolak PPRM oluşumunda enfeksiyonun tetiklemesi ile artmaktadır (14).

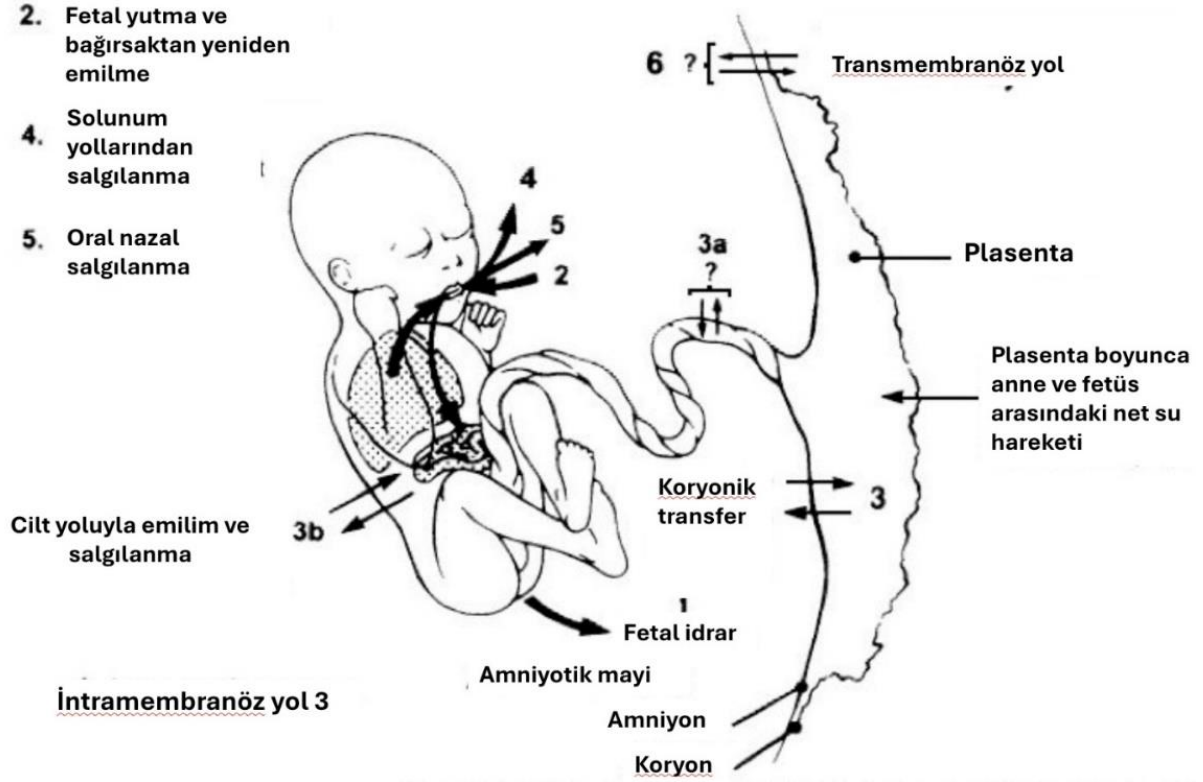


Şekil 1. Fetal membran yapısı (68).

2.2. AMNİYOTİK SIVI

Amniyotik sıvı, intrauterin gelişimde fetüsü çevreleyerek travmaya karşı korumakla birlikte, antibakteriyel etki, sıvı ve besin kaynağı gibi birçok fonksiyonu üstlenmektedir (6). İçerisinde bulunan büyüme faktörleri sayesinde gelişme ve büyümede rol oynadığından, sıvının azaldığı-oligohidroamnios durumlarında fetal hareket kısıtlılığına bağlı fetal deformitelerle de ilişkisi mevcuttur (7). Aynı zamanda immünitinin bir parçası olarak da görev almakta olan amniyotik sıvı içerisinde; lizozim, alfa defensin, laktoferrin, kalprotektin, sekretuar lökosit proteaz inhibitör, psoriazin ve kathelisidin gibi antimikrobiyal maddeler barındırmaktadır.

Amniyotik sıvı volümü 10.haftada yaklaşık 20 ml, 22.haftada 630 ml ve 3.trimesterde yaklaşık 800 ml'ye ulaşır. 28.haftadan itibaren plato çizer ve 41 haftada ortalama 515 ml olarak keskin bir şekilde azalmaktadır. Daha sonra, haftalık amniyotik sıvı hacminde %33'lük bir düşüş görülmektedir. Amniyotik sıvı içeriğinin %98'i sudan ibaret olmakla birlikte proteinler, peptidler, karbonhidratlar, lipidler, elektrolitler, enzimler ve hormonlar da içermektedir. Erken fetal dönemde amniyotik sıvı içeriği fetal plazmaya benzer ve transmembranöz akış ile su ve diğer maddelerin geçişi sağlanmaktadır. Yapılan çalışmalarda fetal membran ve plasentada aquaporin -1, -3, -8 ve -9 mRNA (gen) ekspresyonunun amniyon su akışının düzenlenmesine katkıda bulunabileceği gösterilmektedir. Fetal idrar üretimi 8. haftada başlar ve ilerleyen haftalarda amniyotik sıvı üretilmesinin en önemli kaynağını teşkil etmektedir (~ 300 ml/kg fetal ağırlık/gün). Bunun dışında oral, nasal, trakeal ve pulmoner sıvılar (~60-100 ml/kg fetal ağırlık/gün) da amniyotik sıvıya katkıda bulunmaktadır. Emilimde en önemli kaynak ise fetal yutmadır (~ 200-250 ml/kg fetal ağırlık/gün) (8,9).



Şekil 2. Amniyotik sıvı akış şeması (6).

Amniyotik sıvı indeksi (AFI), günümüzde pratikte amniyotik sıvı hacmini ölçmek için en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir. Maternal sagittal orta çizgiden dikey olarak çizilen hayali çizgiler ve symphysis pubis ile uterus fundusunun üst kenarı arasında enine bir çizgi kullanılarak rahim boşluğu 4 kadrana ayrılmaktadır. Ölçüm sırasında transdüser zemine dik ve maternal sagittal düzleme paralel olmalıdır. Dört kadranın her birinde, kordon veya fetal kısım içermeyen en derin cebin santimetre cinsinden ölçümler toplanmaktadır. Genellikle 5 ila 24 cm'lik bir AFI "normal" olarak kabul edilmektedir (10).

2.3. PRETERM PREMATÜR ERKEN MEMBRAN RÜPTÜRÜ

2.3.1 TANIM VE İNSİDANS

Doğum eylemi başlamadan 37. gebelik haftasından önce fetal membranların yırtılması PPRM adlandırılmaktadır.

PPROM, tüm gebeliklerin yaklaşık %3 ünü etkileyen bir komplikasyon olup, spontan preterm doğumların ise 1/3'ten sorumlu etiyolojik neden olmaktadır (11). PPRM'un genellikle 20-30 yaş arasındaki gebelerde ortaya çıktığı ifade edilmektedir (12).

2.3.2 ETİYOPATOLOJİ

PPROM'da amniyotik membranların tümünün olmasa dahi çoğunluğunda rüptür bölgesinin servikal bölge ostiumunu kaplayan membran-supraservikal alan olduğu görülmektedir. Bu

bölgedeki amniyotik membran yapısal olarak kolayca değişerek bozulup bakterilerle kolonize olabilmektedir (13).

PPROM'da değiştirilmiş membran morfolojisinin süngerimsi, fibroblast ve kompakt katmanlarda olan kollajen ağında oluşan belirgin şişme ve bozulma ile ilişkili olduğu bulunmaktadır. Membran rüptürü mekanizmalarına dahil olan enzimler arasında matriks metalloproteinazlar (MMP-1, MMP-8, MMP-9) bulunmaktadır ve amniyotik sıvıdaki enzim konsantrasyonunun immünoassay ve enzimatik yöntemlerle ölçüldüğünü destekleyen çok sayıda çalışmalar mevcut olmaktadır. MMP2 ve MMP9 özellikle tip 4 (bazal membran kollajeni) ve tip 5 kollajenleri parçalayarak amniyon epitelinin viabilitesini boza bilmektedir. MMP1 ve MMP8 ise fetal membran rüptürü ile ilişkilendirilmektedir. Bu enzimlerde herhangi bir değişiklik ile PPRM riski arasında ilişki olduğu bulunmaktadır (14). Ayrıca PPRM'da amniyotik sıvı konsantrasyonunda artan nötrofil elastaz konsantrasyonu ve azalan salgı lökosit proteaz inhibitörü konsantrasyonu ile ilişki saptanmaktadır (15).

2.3.3. RİSK FAKTÖRLERİ

PPROM, bir çok risk faktörü ile ilişkilendirilmektedir. Polihidroamnios, çoğul gebelik, servikal yetmezlik, antenatal travma, dekolman, antepartum kanama gibi obstetrik komplikasyonlar, bir önceki gebeliğinde PPRM geçirme öyküsü, servikal konizasyon öyküsü, uterin anomali, çevresel etkenlerden stres, genetik yatkınlık ve kollajen vasküler hastalıklar (Ehler Danlos, SLE), sigara ve madde bağımlılığı gibi davranışsal faktörler, düşük sosyoekonomik düzey ve düşük vücut kitle endeksi, Lactobacillus yokluğu, yüksek prolaktin düzeyi gibi bir çok sebep tanımlanmaktadır (16,17, 18).

2.3.4. TANI

Perinatal ve neonatal sonuçları iyileştirmek, oluşabilecek komplikasyonları azaltmak için membran rüptürünün erken ve doğru teşhisi çok önemlidir. PPRM tanısı klinikte hasta anamnezi, klinik muayene ve laboratuvar tanı testleriyle konulmaktadır. Klinik muayenede spekulum muayenesi ile posterior vajinal fornikte sıvı birikimi görülebilmektedir. Ancak membran yırtılmasından 24 saatten fazla zaman geçmişse ıslaklık veya sıvı göllenmesi görülmeyebilir. Bu durumda uterus fundusa manuel baskı veya gebeye valsava manevrası yaptırılması ile vajene sıvı akımı izlenebilmektedir. Ancak tamamen amniyotik sıvının bitmiş (anhidromanios) veya fetal kısım eksternal servikal osu tamamen kapatması durumunda tanı zorlaşa bilmektedir. Belirsiz ve şüpheli klinik durumlarda çalışma prensibi amniyon sıvısındaki plasental alfa mikro globulin-1 (PAMG-1) veya insulin like growth factor binding protein 1 (IGFBP-1) tespitine dayanan, ticari olarak ülkemizde mevcut olan ve güvenilirliği ispatlanmış testler yapılmaktadır (19, 20).

Ayrıca tanı esnasında PPRM düşünülen hastada asendan enfeksiyon ile artan koryoamniyonit riski nedeni 24 saat içinde doğum yapması planlanan vakalar dışında dijital muayeneden kaçınılmaktadır (21,22).

2.3.5. YÖNETİM VE TEDAVİ

PPROM yönetimi ve PPROM'da doğum planlanması maternal ve neonatal sonuçlar açısından günümüzde halen tartışma konusu olmaktadır. Fetal iyilik haline bakılarak acil müdahale gerekliliği ekarte edildikten sonra yönetim kararı gebelik haftasına göre verilmektedir. Gestasyonel yaş dışında fetüsün prezentasyonu ve akciğer maturasyonu, maternal enfeksiyon varlığı, servikal olgunlaşma, yenidoğan yoğun bakım ihtiyacı ve mevcut yoğun bakım servisinin yeterliliği yönetim kararını etkileyecek olan önemli etkenlerdir, fakat gestasyonel yaş yönetiminde en önemli faktör olmaktadır (23,24).

Antenatal kortikosteroid uygulanması: Prematür doğum beklenen olgularda akciğer maturasyonu için kullanılan doz 24 saat arayla 2 doz betametazon (Celestone) 12 mg intramüsküler veya 12 saat arayla 4 doz deksametazon 6 mg intramüsküler şeklindedir. Antenatal kortikosteroid uygulanmasının yenidoğanda intraventriküler kanama, nekrotizan enterokolit (NEC), respiratuar distress sendromu (RDS) riskini azalttığı ortaya konmuştur (25).

Antibiyoterapi: Latent sürenin artırılması amacıyla, antibiyotik profilaksisine başlanır. İlk 48 saat içinde 6 saat aralıklarla intravenöz olarak 2 g ampisilin (4x2 g) ek olarak tek doz oral 1 g azitromisin verildikten sonra 5 gün 12 saatte bir amoksisilin şeklinde toplam 7 gün önerilir. Ampisilin ve amoksisilin GBS ve diğer birçok aerobik gram-negatif bakteri ile bazı anaeroblara hedefler. Azitromisin, koryoamniyonitin önemli bir nedeni olan Üreaplazmayı hedef alır ve ayrıca yenidoğan konjonktiviti ve pnömonisinin önemli bir nedeni olan Chlamydia trachomatis'e karşı etkilidir. Penisilin allerjisi varsa Klindamisin 900 mg 8 saatte bir ve gentamisin 5 mg / kg IV 48 saat, sonra klindamisin 300 mg oral 5 gün boyunca her 8 saatte bir ve eritromisin 250 mg IV her 6 saatte bir 48 saat, sonra eritromisin 333 mg oral her 8 saatte bir 5 gün şeklinde önerilir (26,27).

Tokoliz: Tokolitik tedavinin kullanımı 34. gebelik haftasından küçük gebeliklerde daha uzun latent süre ve 48 saat içinde daha düşük doğum riski ile ilişkili olmakla birlikte artmış koryoamniyonit riski ile de ilişkili olduğundan kullanımı tartışmalıdır. PPROM durumunda tokolitik ajan kullanımı için asıl endikasyon, akciğer maturasyonu nedeni verilen kortikosteroid dozunun tamamlanması için doğumun 48 saat geciktirilmesidir. Dolayısıyla 48 saatten fazla uygulanması önerilmemektedir (28).

Magnezyum sulfat: 24 saat içinde doğum yapması beklenen 23 ile 32. gebelik haftalarındaki gebelere uygulanan MgSO₄ tedavisinin prematür bebekte serebral palsy riskinde azalma olduğunu gösteren çalışmalar mevcut. Yapılan çalışmada magnezyum sülfatın bu etkisi yenidoğan beyinde vasküler dengesizliği, hipoksik hasar uyarıcı aminoasit ve sitokin hasarını azaltarak yaptığı ve serebral palsy riskini azalttığı düşünülmektedir (29).

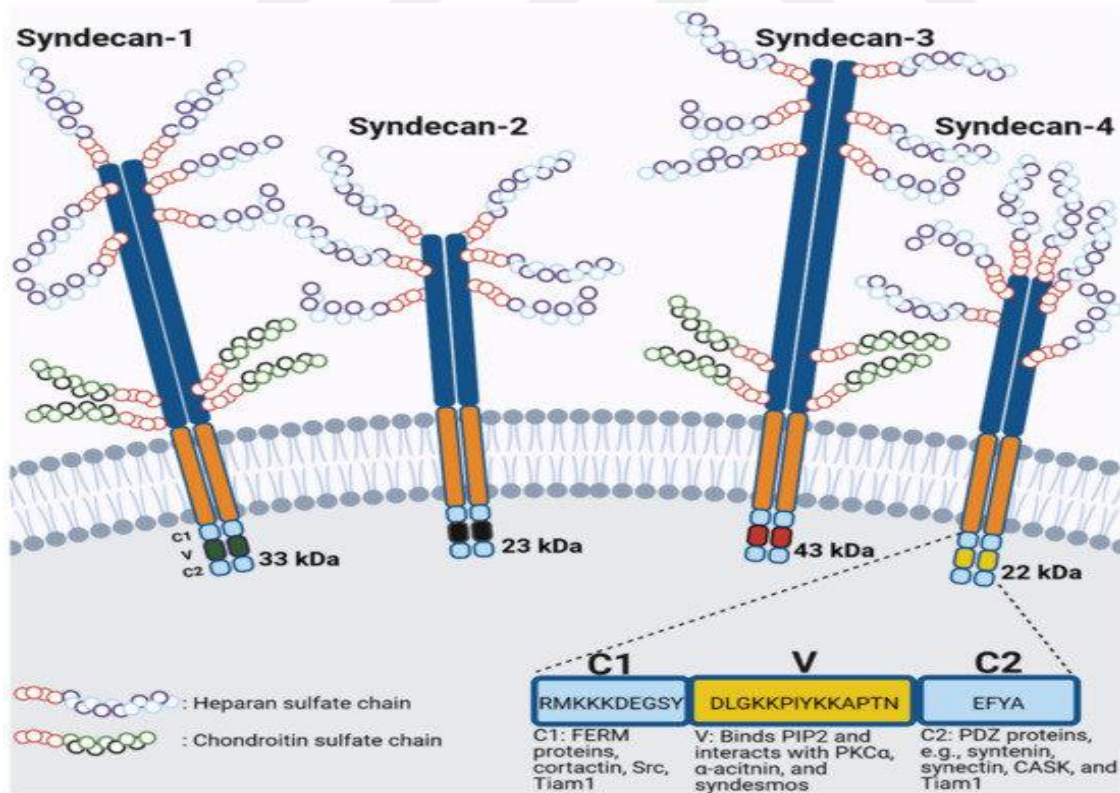
2.3.6 KOMPLİKASYONLAR

Fetal membranların rüptürü fetal ve maternal birçok komplikasyonlara sebep olmaktadır (30). Ana görevi asendan enfeksiyonlara karşı bariyer olan fetal membran rüptürünün maternal veya fetal enfeksiyona sebep olması PPROM'un en önemli komplikasyonudur. Gestasyonel hafta

küçüldükçe membran rüptür süresi de uzama gösterdiği için enfeksiyon riskinde artış söz konusudur. Latent sürenin 12 saati aştığı durumlarda morbiditede belirgin artış saptanmıştır (31). PPRM enfeksiyon dışında birçok fetal komplikasyona; fetal distres, ablasyo plasenta, kord basısı, prematürite, oligohidroamnios ve buna bağlı fetal deformite, pulmoner hipoplaziye sebep olmaktadır. Maternal komplikasyon olarak koryoamniyonite bağlı sepsis, DİC, yetişkin tip respiratuar distres sendromu ve renal yetmezlik görülebilmektedir (32). Bunlar dışında postpartum dönemde %2-%13 oranında endometrit görülebilir (33).

2.4. SYNDECAN

Syndecanlar, adezyon molekülleri, temel fibroblast büyüme faktörü gibi büyüme faktörleri ve organların bakım ve onarımının şekillendirilmesini destekleyen diğer ligandlarla etkileşime giren ve aynı zamanda antikoagülan mekanizmada yer almaktadırlar (34, 35, 36). Ek olarak, sdc'ların ektodomain'i hücre yüzeyinden ayrılarak, makromoleküllerle etkileşime girebilen ve bağlanma özelliklerini koruyabilen çözünür bir PG oluşturabilmektedir (37,38). Mevcut kanıtlar sdc'ların başlıca plasental antikoagülan olduğunu göstermektedir. Trombin aktivitesini regüle ederek fibrin depozitleri birikmesini önlemektedir (39). Sdc ekspresyonunun azalan seviyeleri, uteroplazental dolaşımda plasental bozun artmasına neden olabilir ve dolayısıyla fetal gelişme geriliği (FGR) patogenezinde katkıda bulunabilmektedir (40).



Şekil 3. Syndecan genel yapısı (41).

Şekil 3’de görüldüğü üzere dört üyeli sdc ailesinde sdc 1 ve sdc 3’ün çekirdek proteinleri, sdc 2 ve sdc 4’ün çekirdek proteinlerinden daha büyüktür ve hem heparan hem de kondroitin sülfat

zincirlerini taşıyabilmektedir. Sitoplazmik alanlar, sdc özgü bir değişken (V) bölge ile ayrılmış iki yüksek oranda korunmuş bölgeden (C1 ve C2) oluşur.

Fonksiyonlara gelince FGR ile düşük maternal plasma sdc 1 düzeyi arasında ilişki olduğu gösterilmektedir (42). Endotel glikokaliksinin bozulmasının bir ürünü olan sdc 1, farklı patolojilerde endotel hasarının biyobelirteçlerinden biri olarak önerilmektedir (43). Sdc 1, insan plasentasındaki koryon villusunun sinsityotrofoblast tabakasında yüksek oranda eksprese edilen bir hücre yüzeyi heparan-sülfat proteoglikanıdır (HSPG)(44). Sdc 1 ayrıca büyüme faktörlerini bağlama ve hücre dışı matriks bileşenleriyle etkileşime girme yetenekleri sayesinde hücre davranışının düzenlenmesinde rol oynar, hücre-hücre ve hücre-hücre dışı matriks etkileşimlerinde ve hücre sinyalleşmesinde önemli bir rol oynamaktadır (45). Bu sebepten, sdc 1 sepsis, travma, kardiyovasküler hastalık ve diabetes mellitus gibi durumlarda endotel hasarının bir belirteci olarak önerilmektedir (46). Sinsityotrofoblastik sdc 1 ekspresyonu villöz trofoblastların farklılaşmasına bağlıdır ve preeklampsi ve HELLP sendromunda trofoblastik sdc 1 salınımı azaldığı gösterilmektedir (47,48). Sdc 2 ve 4 ağırlıklı olarak birinci trimester plasentasındaki villöz sitotrofoblast ve ekstrasitotrofoblast hücrelerinde ve termde sinsityotrofoblastlardan eksprese edilmektedir(49). Bu nedenle sdc 2 ve 4'ün ekspresyonu koryokarsinom ve invazif mol gibi trofoblast hastalıklarında değişmektedir (38). Sdc 3'ün hem nöron hem de beyin dokusundaki rolleri tanımlanmaktadır ve değişen tokluk tepkileriyle ilişkilendirilmektedir (50). Deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda, açlık sonrası sdc 3 salınımı arttığı ve beslenmenin artmasına yol açtığı tespit edilmektedir (51). Son çalışmalar, sdc 3 ekspresyonunun nöronal dokularla sınırlı olmadığını ve romatoid artrit gibi inflamatuvar bozukluklarda, anjiyogenez gibi hastalıkla ilişkili süreçlerde ve dendritik hücrelerin HIV tarafından enfeksiyonunun kolaylaştırılmasında önemli rollere sahip olduğunu ileri sürmektedir (52).

Tablo 1. Sdc 1 , sdc 2, sdc 3, sdc 4 fonksiyonları

Syndecan 1	Syndecan 2	Syndecan 3	Syndecan 4
• Hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimleri • Büyüme faktörlerinin bağlanması ve düzenlenmesi • Hücre proliferasyonu, diferansiyasyonu ve göçü • Immün sistem fonksiyonları • Kansere ilişkisi • Doku onarımı ve inflamasyonu	• Hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimleri • Hücre göçü ve yayılımı • Sinyal iletimi • Anjiyogenez • Nöronal gelişim ve plastisite • Enflamasyon ve doku onarımı	• Hücre göçü ve hücre iskeletinin düzenlenmesi • Nöronal gelişim ve sinaptik düzenleme • Nöropeptidler ve kemokinlerle etkileşim • Kas gelişimi (myogenez) • Enerji metabolizması ve beslenme davranışı (hipotalamus) • İnflamasyon ve doku onarımı	• Hücre adezyonu ve fokal adhezyon oluşumu • Hücre iskeleti düzenlenmesi • Mekanosensör görevi • Hücre göçü • Protein kinaz C aktivasyonu • Endositoz ve hücre sinyalleşmesi • Yaralanma yanıtı ve doku onarımı

Sdc'ların çoklu işlevleri göz önüne alındığında, insan plasentasında yer alan bu moleküllerin aynı zamanda bir dizi potansiyel mekanizma yoluyla sağlıklı bir hamileliğin sürdürülmesine de katkıda bulunduğu varsayılmaktadır.

Çalışmamızda riskli gebelik gruplarından biri olan PPRM tanılı kadınların maternal kan, plasenta ve amniyon zarını incelenerek, biyokimyasal ve immünohistokimyasal sdc düzeyleri ile PPRM gelişmesi arasında ilişki olup olmadığı araştırılacaktır. Literatürde FGR, preeklampsi HELLP sendromu gibi diğer riskli gebelik durumları ile sdc düzeyleri arasındaki ilişkiyi inceleyen çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Ancak incelediğimiz kadarıyla ile sdc 1, sdc 2, sdc 3, sdc 4 tümü ile PPRM arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmaya rastlamadık. Bu sayede tamamlandığında öncü niteliği taşıyacak olan bu çalışma, maternal-fetal sağlık üzerine yapılacak olan diğer çalışmalar için yol gösterici nitelikte olacaktır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

ARAŞTIRMANIN TİPİ:

Çalışma prospektif gözlemsel tipte planlanmış olup, veriler 2023–2024 yılları arasında toplanmıştır; olgu formları ve laboratuvar parametreleri kullanılarak gruplar karşılaştırılmıştır.

ARAŞTIRMANIN YERİ VE ZAMANI:

Prospektif gözlemsel olarak tasarlanan bu çalışmamız Manisa Celal Bayar Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Servisine PPRM tanısı ile yatan hastalardan ve ek herhangi bir hastalığı olmadan doğum yapan gebelerden 2023-2024 tarihlerinde yapılmıştır.

Çalışmamıza hastanemizin etik kurulundan 14/02/2024 tarihli alınan 2260 karar no'lu onay ile başlandı. Çalışmamızda kullanılan malzemeler Manisa Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2024-003 no'lu proje ile desteklenmiştir. Çalışmamıza dahil olan tüm gebelere çalışma ile ilgili sözel bilgilendirme yapılmış ve yazılı gönüllü onam formu ile onamları alınmıştır. Alınan numuneler Manisa Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Araştırma laboratuvarında çalışılmıştır.

Çalışmamıza PPRM hasta sayısı 14 ve kontrol grubu sayısı 22 olan toplam 36 hasta dahil edilmiştir. PPRM olarak kabul edilen hastalarımız 24-37. haftalarda muayene sırasında aktif su gelişi izlenen veya su gelişi test kitleri ile doğrulaması yapılan hastalardır.

ÖRNEKLEM BÜYÜKLÜĞÜ VE İSTATİSTİK DEĞERLENDİRME:

Prospektif gözlemsel olarak tasarlanan bu çalışma, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Servisi'nde PPRM tanısı ile yatırılarak izlenen hastalar üzerinde gerçekleştirilmiştir. Planlanan örneklem büyüklüğü G*Power 3.1.9.7 programı

kullanılarak hesaplanmıştır. Hesaplamada 1.153 etki büyüklüğü, %95 güç (power) ve %0.05 tip I hata düzeyi (α) esas alınmış; bu doğrultuda vaka grubu için 14, kontrol grubu için 22 hasta planlanmıştır (55).

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 25.0(SPSS Inc.; Chicago, IL, USA) paket programı kullanıldı. Verilerin analizinde “ortalama $\pm$ SS” değerlerine odaklanıldı. P değeri 0.05’ten küçük olan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

CLINICAL TRIALS KAYDI:

Bu çalışma, Clinical Trials protokol kayıt ve sonuç sistemine NCT06639919 numarası ile kaydedilmiştir.

ÇALIŞMAMIZA ALINMA KRİTERLERİ:

- 18 yaş üstünde veya 50 yaş altında olmak
- Türkçe okur yazar olmak
- Tekil gebelik
- Aktif enfeksiyon bulgularının olmaması
- Ek herhangi bir sistemik hastalık durumunun olmaması (diabetes mellitus, hipertansiyon vb.)
- Çalışmaya dahil olmayı kabul etmesi

Çalışmamamıza dahil edilen gebelerin obstetrik öykü ve sosyo-demografik özellikleri olgu formu kullanılarak doldurulmuştur. Olgu formumuzda hastanın yaşı, gebelik öyküsü, gebelik haftası, vücut kitle indeksi, ek herhangi bir hastalık veya kullandığı ilaç olup olmaması, geçirilmiş ameliyat ve allerji öyküsü, sigara kullanımı, su geliş haftası, doğum haftası ve doğum şekli, bebek ağırlığı ve cinsiyeti, gebenin hemogram, trombosit, lökosit ve crp değeri not edilmiştir.

Maternal serum örneklerinden sdc 1, 2, 3 ve 4 düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçülmüş; plasenta ve amniyon dokularında aynı izoformların ekspresyonları immünohistokimyasal yöntemle değerlendirilmiştir.

PPROM nedeniyle hastaneye yatırılan hastalardan rutin olarak alınan maternal kan örneklerinden 2 mL (yaklaşık bir çay kaşığı) santrifüj edilerek serum ayrıştırılmış ve -80 °C’de muhafaza edilmiştir. Doğum sonrası süreçte tıbbi atık olarak imha edilecek olan amniyon zarı ve plasentadan (bebeğin eşi) tüm katları kapsayacak şekilde 3 × 3 cm boyutunda doku parçaları alınmıştır. Alınan doku örnekleri %10 formalin içinde saklanmıştır. Plasenta örnekleri, atık durumunda oldukları ve anne-bebek ile bağlantısı kalmadığı için örnek alımı sırasında anne veya bebek açısından herhangi bir risk bulunmamaktadır.

Kontrol grubu hastaları, belirlenen dışlama kriterlerine göre seçilmiş olup maternal kan örnekleri, poliklinik takipleri sırasında alınan rutin kanlardan 2 mL ayrılarak toplanmıştır. Kan örneği alınan kontrol hastaları, miadında doğum yaptıklarında doku ve serum örnekleri çalışmaya dahil edilmiştir. Kontrol grubunda, hastanın erken doğum yapması, doğumu dış

merkezde gerçekleştirmesi veya çalışmadan çekilmek istemesi durumunda hasta çalışmadan çıkarılmıştır.

Araştırmanın doğası gereği PPRM hastaları erken gebelik haftasında doğurtulmaktadır; bu nedenle doku ve kan örnekleri alımı sırasında PPRM ve kontrol grupları arasında gebelik haftası farkı oluşmakta olup, bu durum çalışmanın sınırlılıkları arasında yer almaktadır.

İmmünohistokimyasal inceleme: İmmünohistokimyasal boyama için alınan plasenta ve amniyon zar dokuları kesitleri bir gece 60° C' lik etüvde tutulduktan sonra, iki defa 30'ar dakika ksilen solüsyonu ile şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi. Ardından % 95' ten % 60' a azalan derecede alkol serileri ile rehidratasyon sağlanarak distile suda 10 dakika bekletildi. İmmünohistokimya kalemi (PEN-01, PatoLab, Japan) ile etrafı çizilen kesitler % 0,5' lik tripsin (ATR31414, Thermo Fisher Scientific, Cheshire, UK) solüsyonu içinde oda sıcaklığında 15 dakika tutuldu. Doku endojen peroksidazını inhibe etmek amacıyla 5 dk. % 3' lük H₂O₂ uygulandı. 3 defa 5' er dakika PBS ile yıkanan kesitler 10 dakika bloklama solüsyonu (AUB161208AI, Thermo Fisher Scientific, Cheshire, UK) ile muamele edildi. Bloklama solüsyonu dokudan uzaklaştırıldıktan sonra primer antikorlar anti-syndecan 1 (MA5-12400 Thermo-Alman), anti-syndecan 2 (366200- Thermo-Alman), anti-syndecan 3 (PAS-100116- Thermo-Alman), ve anti-syndecan 4 (363100 Thermo-Alman) ile bir gece inkübe edildi. Ertesi gün PBS ile 3 defa yıkanan kesitler, anti-mouse-rabbit biotinlenmiş ikincil antikor ve ardından streptavidin hidrojen peroksidaz ile (PHL170627, Thermo Fisher Scientific, Cheshire, UK) ile 30' ar dakika boyandı. Bu iki boyama arasında ve son inkübasyondan sonra kesitler 3 defa 5 dk PBS ile yıkandı. Son olarak 3-Amino-9-Ethylcarbazole (AEC, ASS-060, Spring, CA, USA) 3-5 dk uygulandı ve PBS ile yıkandı, nükleuslar artalan boyaması için Mayer's hematoksilen ile boyandı distile su ile yıkanıp Mounting medium (DMM-060, Spring, CA, USA) ile kapatıldı. İmmün işaret skorları birbirinden bağımsız 2 araştırmacı tarafından değerlendirildi ve fotoğraflar CX31 ışık mikroskobunda çekildi (Olympus, Tokyo, Japan). Boyamalarda her bir preparatta X400 büyültmede rasgele beş alan seçilerek tutulumların yoğunluğuna ve tutulum miktar yüzdesine göre H skoru hesaplandı. Tutulum yoğunluğu semi kantitatif olarak 0 (0, tutulum yok), 1 (+, zayıf immünreaktivite), 2 (+ +, orta düzeyde immünreaktivite), 3 (+ + +, kuvvetli düzeyde immünreaktivite) olarak skorlandırıldı. Tutulum miktar yüzdesi immünreaktivitenin bulunduğu hücre/yapıların toplam hücre/yapılara oranlanması ile; 1 (%0 – 10 arası, fokal), 2 (%11 – 50 arası, bölgesel) ve 3 (%51-100 arası, diffüz) olarak skorlandı. Her bir alan için bulunan yoğunluk ve miktar skorları $\Sigma Pi.(i+1)$ (Pi = tutulum miktar yüzdesi, i = tutulum yoğunluğu) formülü ile hesaplandı. Sonuçlar toplanarak o lam için tek bir değere ulaşıldı (53).

Tablo 2: İmmünohistokimya protokolü

İşlem	Madde	Süre
Deparafinizasyon	60°C etüvde	1 gece

Deparafinizasyon	Ksilen	30 dakika
	Ksilen	30 dakika
Rehidratasyon	%95 alkol	2 dakika
	%80 alkol	2 dakika
	%70 alkol	2 dakika
	%60 alkol	2 dakika
Yıkama	Distile su	10 dakika
	Sitrat buffer	15 dakika mikrodalga
Dokuların etrafını çizme	%3'lük hidrojen peroksit	5 dakika
	Dakopen	
Yıkama	PBS	3 x 5 dakika
Bloklama	Blok solüsyonu	10 dakika
Antikor ile inkübasyon	Syndecan1,2,3,4	1 gece
Yıkama	PBS	3 x 5 dakika
	İkincil antikor	30 dakika
Yıkama	Streptavidin	hidrojen 30 dakika
	peroksidaz	
Yıkama	PBS	3 X 5 dakila
Boyama	AEC	5 dakika
Yıkama	Distile su	10 dakika
Zıt Boyama	Mayer hematoksilen	5 dakika
Dehidratasyon	%80 alkol	2 dakika
	%95 alkol	
Şeffaflaştırma	Ksilen	30 dakika
Kapama	Mounting medium	

Biyokimyasal İnceleme: Kan biyobelirteç analizleri için numuneler sarı kapaklı serum separator jelli 5,5 ml'lik tüplere alınmış, pıhtılaşma reaksiyonu için en az 30 dakika beklenildikten sonra tüpler 1000g x 15 dk +4°C'de santrifüj edilmiştir. Elde edilen serum örnekleri her bir biyobelirteç için ayrı ayrı polipropilen 0,5 ml'lik ependorf tüplerine porsiyonlanmıştır. Örnekler çalışma gününe kadar -80 derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Planlanan hasta ve kontrol grubu sayısına ulaşılmasını takiben örnek toplanması sonlandırılmış, çalışma günü bir gece önceden serum örnekleri +4°C'ye alınarak bütün numunelerin homojen olarak çözünmesi sağlanmıştır. Biyobelirteçlerin syndecan 1 (EH0278-V, Finetest -ÇİN),

syndecan 2 (EH0754, Finetest -ÇİN), syndecan 3 (EH3753, Finetest -ÇİN), syndecan 4 (EH3754, Finetest -ÇİN) analizlerine BioTek markasının ELx800 cihazında ELISA yöntemi uygulanmıştır (54).

4. BULGULAR

Grupların demografik, obstetrik ve neonatal verileri Tablo 3'te gösterilmektedir. PPRom grubunda yaş ortalaması 28.5 (SS: 4.8) iken kontrol grubunda yaş ortalaması 33.2 (SS: 4.2) olup gruplar arasında yaş açısından istatistiksel anlamda fark bulunmaktadır (p: 0.005). Vücut kitle indeksi (VKİ) ortalamaları PPRom ve kontrol grupları için sırasıyla 27.4 (SS: 1.4) ve 28.6 (SS:1.1) olarak bulunmuş olup gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmaktadır (p: 0.006). Gebelik sayısı PPRom grubunda ortalama 3.07 (SS: 3.02) iken kontrol grubunda 3.4 (SS: 1.6) bulunmuş ve gruplar arasında istatistiksel fark bulunmamıştır (p: 0.624). Doğum sayısı ortalaması PPRom ve kontrol grubunda sırasıyla 0.9 (SS: 1.4) ve 2.1 (SS: 1.0) olup gruplar arasında anlamlı fark bulunmaktadır (p: 0.007). Abortus sayılarına bakıldığında PPRom grubunda ortalama abortus sayısı 0.2 (SS:1.9) iken kontrol grubunda ortalama 0.2 (SS: 0.8) olduğu görüldü ve gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı (p: 0.054). Gruplar arasındaki yaşayan çocuk sayısı karşılaştırıldığında PPRom grubunda ortalama 0.9 (SS: 1.5) kontrol grubunda ortalama 2 (SS: 1.1) olduğu görüldü ve gruplar arasında anlamlı fark saptandı (p: 0.017). Doğum haftası PPRom grubunda 34.8 hafta (SS: 1.25), kontrol grubunda ise 38.09 hafta (SS: 1.03) olarak saptanmış olup gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark olduğu görüldü (p: <0.001). Bebek ağırlığı PPRom grubunda ortalama 2433.93 g (SS: 472.59), kontrol grubunda 3221.82 g (SS: 508.98) olarak tespit edilmiş ve gruplar arasından istatistiksel anlamlı fark saptanmıştır (p:<0.001).

Tablo 3. PPRom ve kontrol gruplarının demografik, obstetrik, neonatal bulgularının karşılaştırılması.

Değişken	PPROM (n:14)	Kontrol (n:22)	p
Yaş	28.5 ± 4.8	33.2 ± 4.2	.005*
VKİ	27.4 ± 1.4	28.6 ± 1.1	.006*
Gebelik sayısı	3 ± 3	3.4 ± 1.6	.624*
Parite	0.9 ± 1.4	2.1 ± 1.0	.007*

Değişken	PPROM (n:14)	Kontrol (n:22)	<i>p</i>
Abortus	0.2 ± 1.9	0.2 ± 0.8	.054
Yaşayan çocuk sayısı	0.9 ± 1.5	2 ± 1.1	.017*
Doğum haftası	34.8 ± 1.2	38 ± 1	<.001*
Bebek ağırlığı	2433.9 ± 472.5	3221.8 ± 508.9	<.001*

*Tüm istatistiksel analizlerde anlamlılık düzeyi $p < .05$ olarak kabul edilmiştir.

Gruplar arasında laboratuvar parametrelerinin karşılaştırması Tablo 4'te gösterilmektedir. PPRom grubunda hemoglobin (HB) düzeyi ortalama 11.7 ike kontrol grubunda 11.3 olarak saptanmış ve gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p: 0.407$). PPRom ve kontrol grubunun trombosit (PLT) değerleri karşılaştırıldığında sırasıyla ortalama 261.5 ve 221.8 olarak bulunmuş olup istatistiksel anlamlı fark saptanmıştır ($p: 0.129$). Gruplar arasındaki lökosit (WBC) değerleri karşılaştırıldığında PPRom grubunda ortalama 12.5 ve kontrol grubunda 10.1 olarak bulunmuş, PPRom grubunda istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu saptanmıştır ($P: 0.003$). C reaktif protein (crp) değerleri incelendiğinde PPRom grubunda ortalama 1.3 olarak saptanırken kontrol grubunda 0.3 olarak saptanmış ve gruplar arasında isteksel anlamlı fark olduğu görülmüştür ($P:0.022$).

Tablo 4. PPRom ve kontrol gruplarının hematolojik bulgularının karşılaştırılması.

Değişken	PPROM (n:14)	Kontrol (n:22)	<i>p</i>
HB	11.7 ± 1.4	11.3 ± 1.2	.407
PLT	261.5 ± 80.3	221.8 ± 71	.129
WBC	12.5 ± 2.6	10.1 ± 1.9	.003*
CRP	1.3 ± 1.8	0.3 ± 0.4	.022*

*Tüm istatistiksel analizlerde anlamlılık düzeyi $p < .05$ olarak kabul edilmiştir.

PPROM grubunda su gelişi haftası ortalaması 33.9 hafta (SS: 3.14) olup, en erken su gelişi 24 haftada, en geç ise 36.8 haftada meydana gelmiştir. (Tablo 5)

Tablo 5. PPRom olgularında su geliş haftasına ilişkin tanımlayıcı istatistikler

Değişken	Grup	N	Ortalama	SS
Su geliş haftası	PPROM	14	33.91	3.14

Geçirilmiş ameliyat ile grup değişkeni arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur, p: 0.006. PPRom grubunda katılımcıların %21,4'ü daha önce ameliyat geçirmişken, kontrol grubunda bu oran %68,2'dir. Sigara kullanımı ile grup değişkeni arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır, p: 0.740. PPRom grubunda katılımcıların %7,1'i sigara kullanırken, kontrol grubunda bu oran %4,5'tir. Doğum şekli ile grup değişkeni arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır, p: 0.465. PPRom grubunda doğumların %28,6'sı normal doğum iken, kontrol grubunda bu oran %18,2'dir. Bebek cinsiyeti ile grup değişkeni arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır, p: 0.270. PPRom grubunda bebeklerin %35,7'si kız, %64,3'ü erkek iken, kontrol grubunda %54,5'i kız, %45,5'i erkekti.

Tablo 6. PPRom ve kontrol gruplarının obstetrik ve neonatal özelliklerine göre karşılaştırılması.

Değişken	Kategori	PPROM	KONTROL	p
Geçirilmiş ameliyat	Var	%21.4 (3)	%68.2 (15)	.006*
	Yok	%78.1 (11)	%31.8 (7)	
Sigara kullanımı	Var	%7.1 (1)	%4.5 (1)	.740*
	Yok	%92.9 (13)	%95.5 (21)	
Doğum şekli	Normal doğum	%28.6 (4)	%18.2 (4)	.465*
	Sezaryen	%71.4 (10)	%81.8 (18)	
Bebek cinsiyeti	Kadın	%35.7 (5)	%54.5 (12)	.270*
	Erkek	% 64.3 (9)	%45.5 (10)	

*Tüm istatistiksel analizlerde anlamlılık düzeyi $p < .05$ olarak kabul edilmiştir.

HİSTOLOJİK BULGULAR

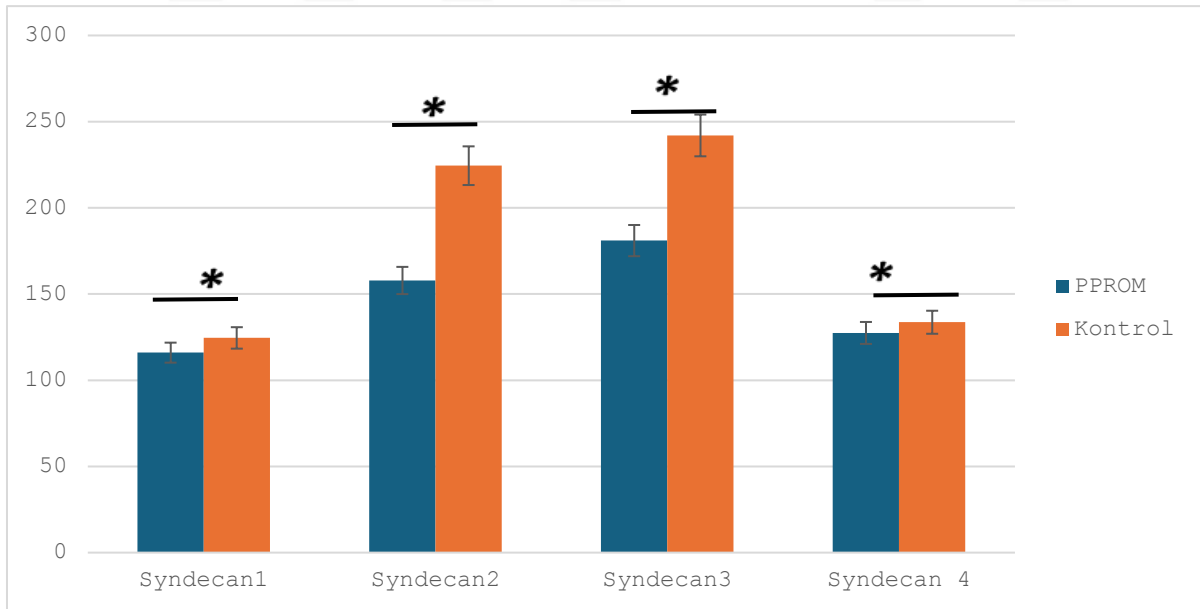
Plasentada yapılan immunhistokimya boyama H skoru sonuçları incelendiğinde sdc1 için PPRom grubunda ortalama 116.0 kontrol grubunda ise ortalama 124.5 bulunmuş olup gruplar arasında istatistiksel anlamda fark saptanmıştır (p: 0.000). Sdc 2 PPRom grubunda 157.8 saptanırken kontrol grubunda 224.4 saptanmıştır ve istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur (p: 0.000). PPRom grubunda sdc 3 değeri ortalama 181.0 saptanırken kontrol grubunda 242.0

saptanmıştır ve gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark olduğu gözlenmiştir (p: 0.000). Sdc 4 değeri PPRom grubunda ortalama 127.4 kontrol grubunda ortalama 133.6 saptanmış ve gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur (p: 0.000). (Tablo7) (Grafik 1)

Tablo 7. Gruplar arasında term plasenta sdc 1, sdc 2, sdc 3, sdc 4 immünohistokimya boyama sonuçları açısından ort±ss değerleri.

Hscore	PPROM Ort±SS (n:14)	KONTROL Ort±SS (n:22)	p
Syndecan 1	116.0 ± 3.8	124.5 ± 3.03	.000*
Syndecan 2	157.8 ± 5.2	224.4 ± 4.9	.000*
Syndecan 3	181.0 ± 3.2	242.0 ± 3.6	.000*
Syndecan 4	127.4 ± 4.8	133.6 ± 3.0	.000*

(*) Gruplar arasında anlamlı farklılıkları ifade eder.



Grafik 1: Gruplar arasında term plasenta sdc 1, sdc 2, sdc 3, sdc 4 immünohistokimya boyama sonuçları için morfometrik veriler. Veriler Ortalama ± SS'dir.

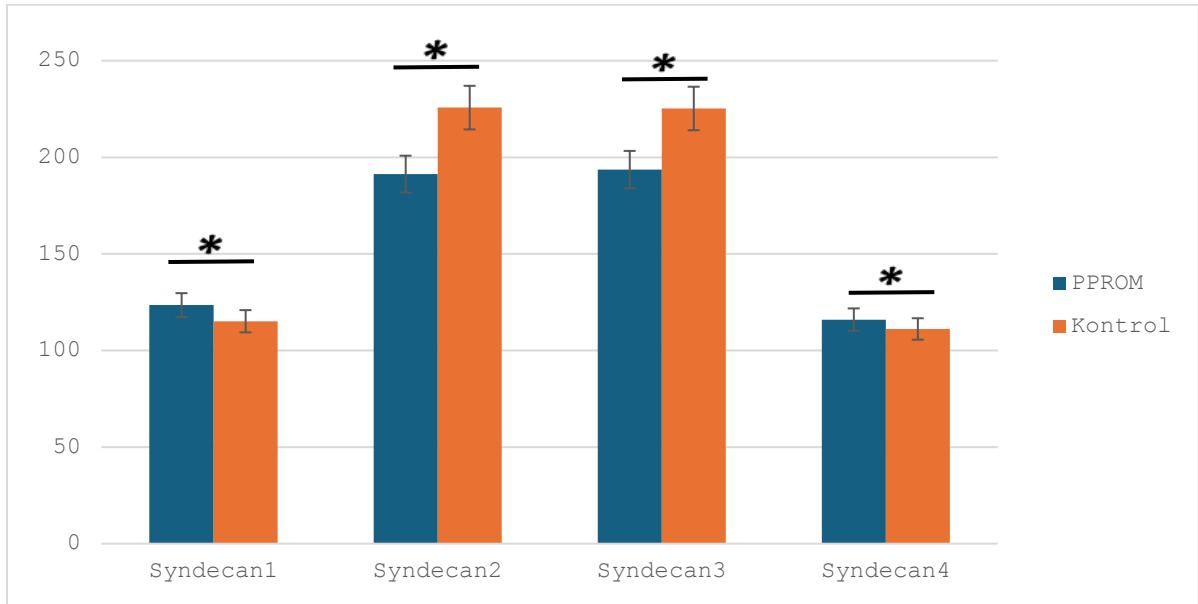
Amniyon zarında yapılan immunhistokimya boyama H skoru sonuçları incelendiğinde sdc1 için PPRom grubunda ortalama 123.5 kontrol grubunda ise ortalama 115.1 bulunmuş olup gruplar arasında istatistiksel anlamda fark saptanmıştır (p: 0.000). Sdc 2 PPRom grubunda

191.2 saptanırken kontrol grubunda 225.7 saptanmıştır ve istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur (p: 0.000). PPRom grubunda sdc 3 değeri ortalama 193.6 saptanırken kontrol grubunda 225.2 saptanmıştır ve gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark olduğu gözlenmiştir (p: 0.000). Sdc 4 değeri PPRom grubunda ortalama 116.0 kontrol grubunda ortalama 111.1 saptanmış ve gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur (p: 0.000). (Tablo 8) (Grafik 2)

Tablo 8. Gruplar arasında amniyon zarı sdc 1, sdc 2, sdc 3, sdc 4 immünohistokimya boyama sonuçları açısından ort±sd değerleri.

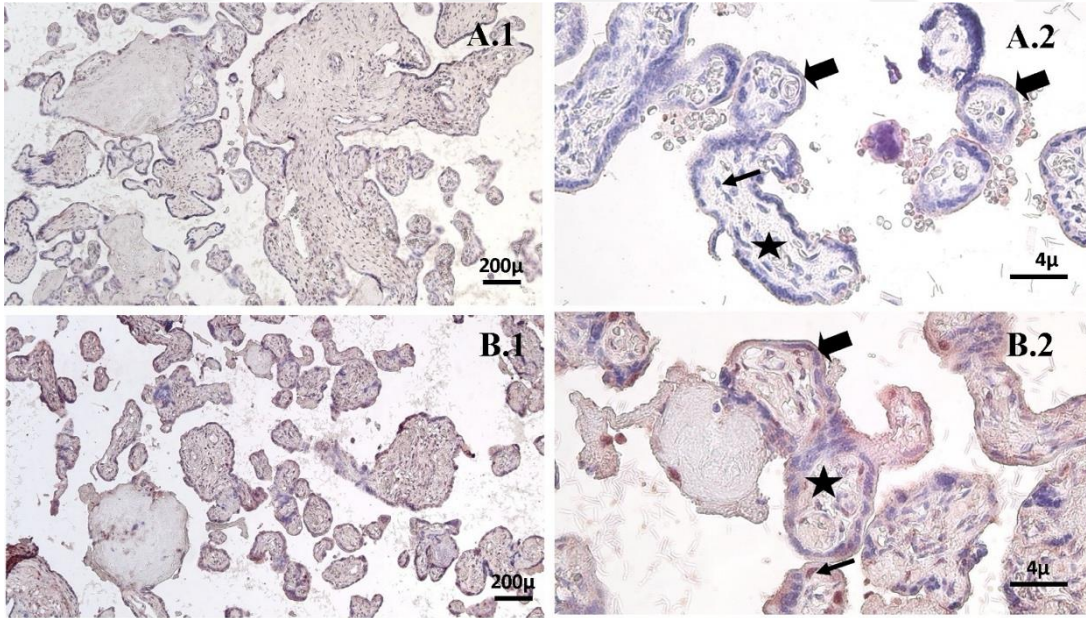
HScore	PPROM Ort±SS	KONTROL Ort±SS	p
Syndecan 1	123.5 ± 5.6	115.1 ± 5.8	.000*
Syndecan 2	191.2 ± 34.2	225.7 ± 5.0	.000*
Syndecan 3	193.6 ± 34.8	225.2 ± 5.9	.000*
Syndecan 4	116.0 ± 3.8	111.1 ± 7.8	.000*

(*) Gruplar arasında anlamlı farklılıkları ifade eder.

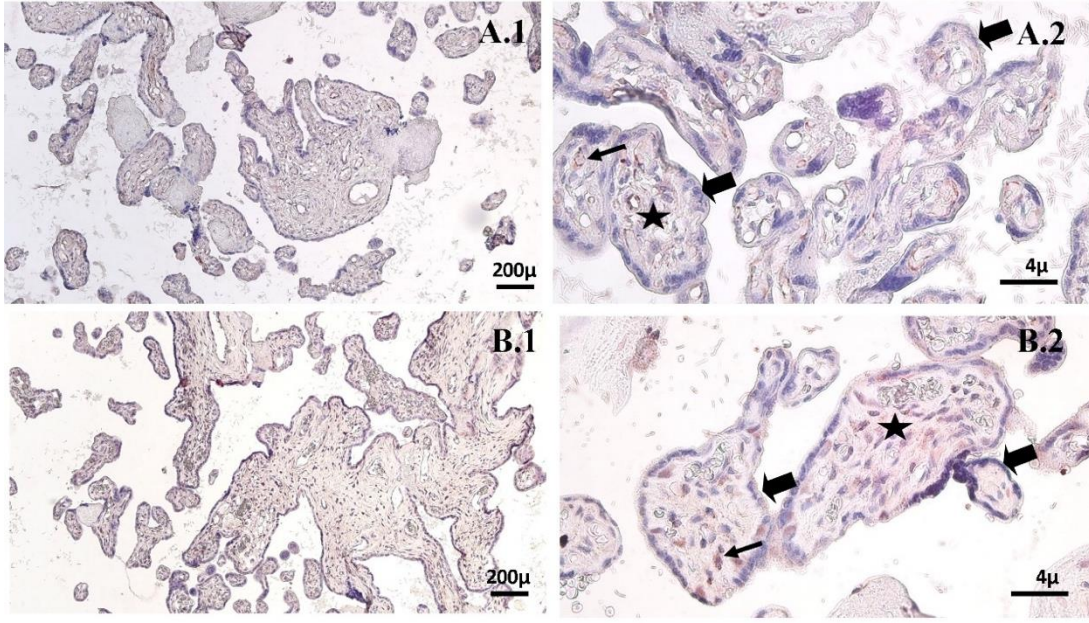


Grafik 2: Gruplar arasında amniyon zarı sdc 1, sdc 2, sdc 3, sdc 4 biyokimya sonuçları için morfolometrik veriler. Veriler Ortalama ± SS'dir.

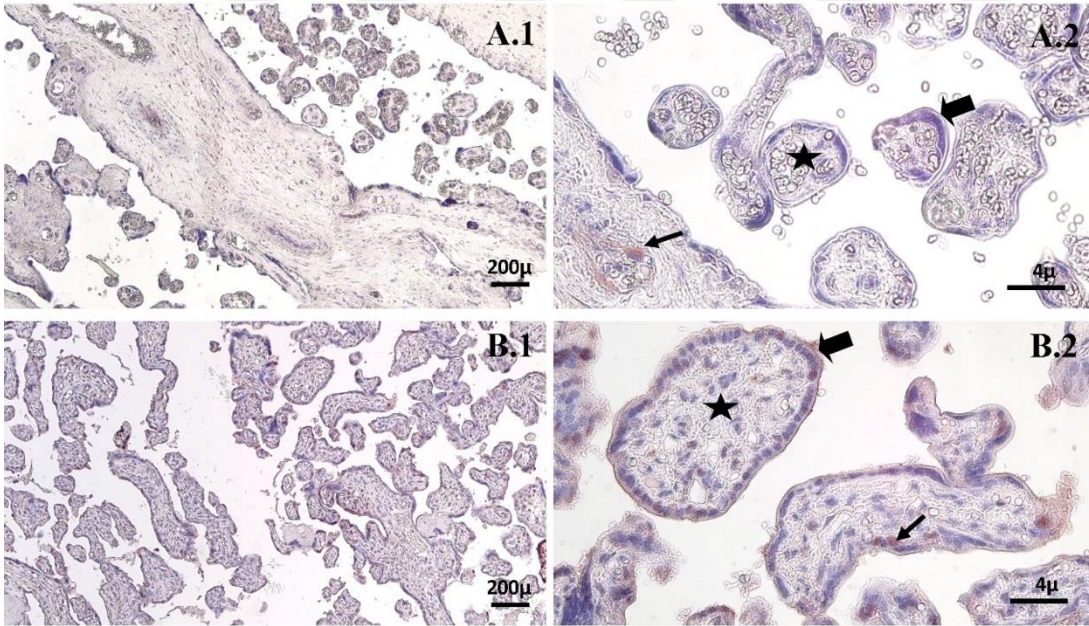
Sdc 1 immün boyamasında PPROM grubunda plasenta sinsityotrofoblast ve stromal hücrelerinde zayıftan orta dereceye reaksiyon gözlenirken, kontrol grubunda orta derecede reaksiyon göstermesi dikkati çekti (Şekil 3A1, A2, B1, B2). Hem PPROM hem kontrol grubunda amnion epitel hücrelerinde ve stromal hücrelerde ise daha zayıf reaksiyon gözlemlendi (Şekil 7A1, A2, B1, B2). Sdc 2 immün boyamasında ise PPROM grubunda plasenta sinsityotrofoblast ve stromal hücrelerinde orta derecede ekspresyon izlenirken, kontrol grubunda orta dereceden kuvvetliye değişen reaksiyon dikkati çekti (Şekil 4A1, A2, B1, B2). Amnion epitel hücrelerinde ve stromal hücrelerde sdc 2 immün boyaması hem PPROM hem de kontrol grubunda orta dereceden kuvvetliye doğru değişen reaksiyon gösterdi (Şekil 8A1, A2, B1, B2). Sdc 3 immün boyamasında ise PPROM gruplarında plasenta sinsityotrofoblast ve stromal hücrelerinde orta derecede ekspresyon izlenirken, kontrol grubunda orta dereceden kuvvetliye değişen reaksiyon dikkati çekti (Şekil 5A1, A2, B1, B2). Amnion epitel hücrelerinde ve stromal hücrelerde sdc 3 immün boyaması hem PPROM hem de kontrol grubunda orta dereceden kuvvetliye doğru değişen reaksiyon gösterdi (Şekil 9A1, A2, B1, B2). Sdc 4 immün boyamasında ise PPROM grubunda plasenta sinsityotrofoblast ve stromal hücrelerinde orta derecede ekspresyon izlenirken, kontrol grubunda kuvvetli reaksiyon dikkati çekti. Sdc 4 immün boyamasında intermediate trophoblastlar hem PPROM grubunda hemde kontrol grubunda orta dereceden kuvvetliye değişen reaksiyon göstermesi oldukça dikkat çekiciydi (Şekil 6A1, A2, B1, B2). Amnion epitel hücrelerinde ve stromal hücrelerde sdc 4 immün boyaması hem PPROM hem de kontrol grubunda zayıftan orta dereceye doğru değişen reaksiyon gösterdi (Şekil 10A1, A2, B1, B2).



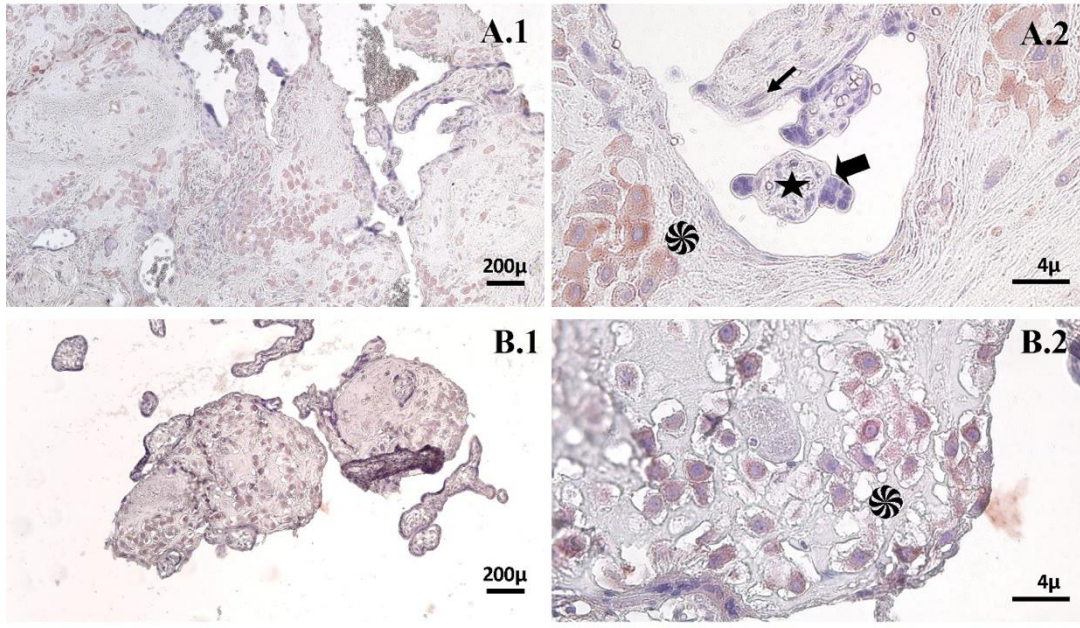
Şekil 3: Term plasentada sdc 1 immunohistokimya boyaması. PPROM (A), Kontrol (B), ➡:Villöz sinsityotrofoblast hücreler, ➡: villöz stromal hücreleri, ★: Tersiyer villuslar. Zemin boyama Mayers Hematoksilen (1) X100 Bar = 200 µm, (2) X400 OB Bar = 4 µm.



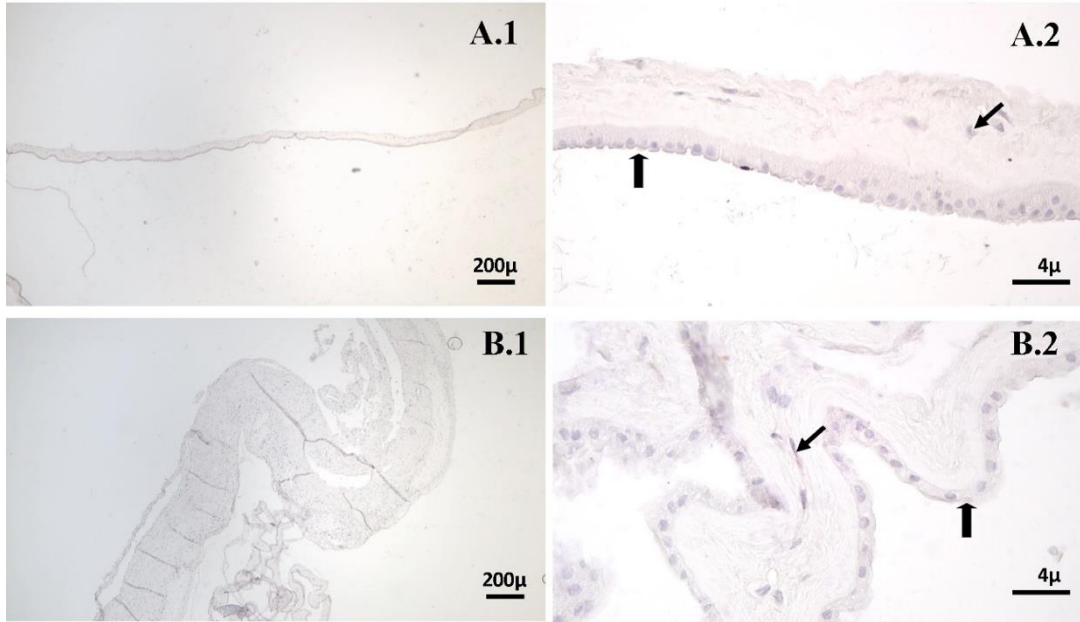
Şekil 4: Term plasentada sdc 2 immunohistokimya boyaması. PPRom (A), Kontrol (B), ➡:Villöz sinsityotrofoblast hücreler, →: villöz stromal hücreleri, ★: Tersiyer villuslar. Zemin boyama Mayers Hematoksilen (1) X100 Bar = 200 µm, (2) X400 OB Bar = 4 µm.



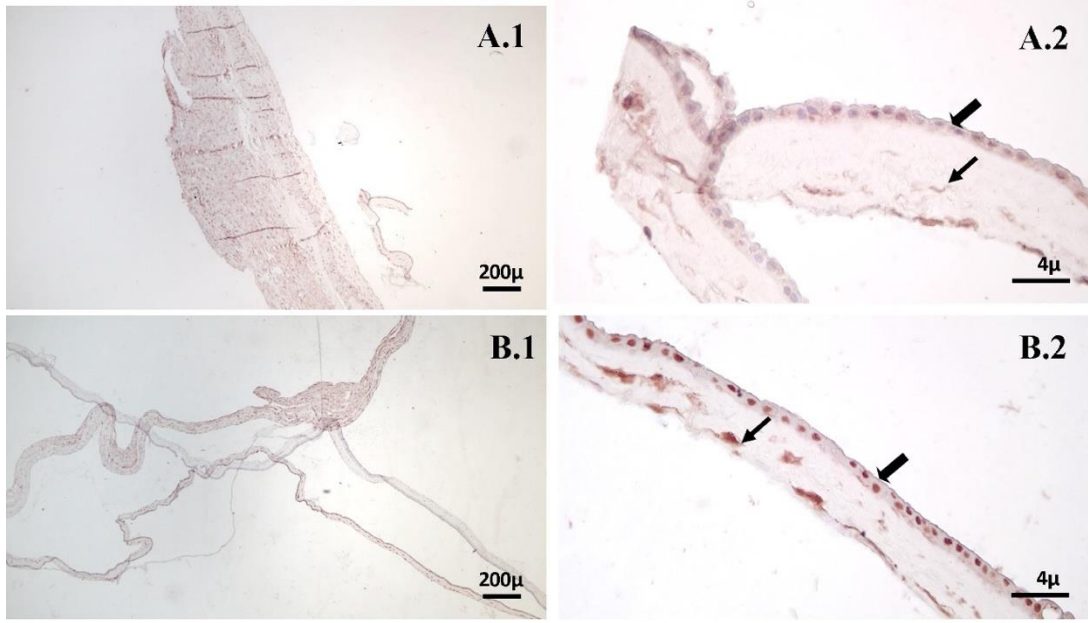
Şekil 5: Term plasentada sdc 3 immunohistokimya boyaması. PPRom (A), Kontrol (B), ➡:Villöz sinsityotrofoblast hücreler, →: villöz stromal hücreleri, ★: Tersiyer villuslar. Zemin boyama Mayers Hematoksilen (1) X100 Bar = 200 µm, (2) X400 OB Bar = 4 µm.



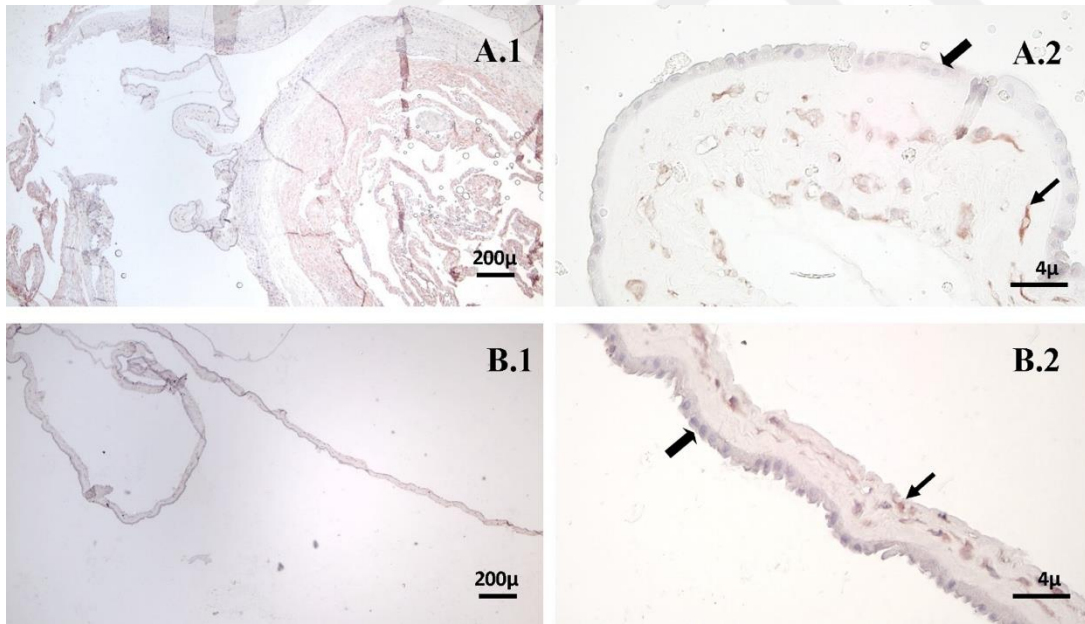
Şekil 6: Term plasentada sdc 4 immunohistokimya boyaması. PPR0M (A), Kontrol (B), ➡:Villöz sinsityotrofoblast hücreler, ➡: villöz stromal hücreleri, ★: Tersiyer villuslar, ⌘: intermediate trophoblast. Zemin boyama Mayers Hematoksilen (1) X100 Bar = 200 µm, (2) X400 OB Bar = 4 µm.



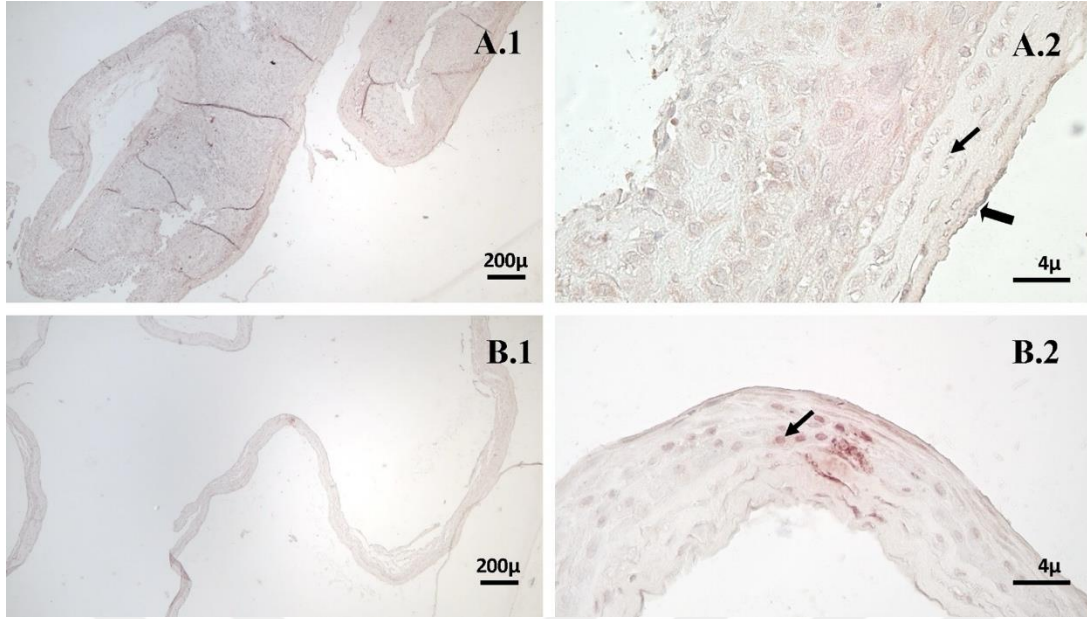
Şekil 7: Sdc 1 immunohistokimya boyası ile boyanmış insan amniyotik membran yapısı. ➡: Amniyotik epitel hücreler, ➡: stromal hücreler. Zemin boyama Mayers Hematoksilen (1) X100 Bar = 200 µm, (2) X400 OB Bar = 4 µm.



Şekil 8: Sdc 2 immunohistokimya boyası ile boyanmış insan amniyotik membran yapısı.
 ➡: Amniyotik epitel hücreler, →: stromal hücreler. Zemin boyama Mayers Hematoksilen (1) X100 Bar = 200 µm, (2) X400 OB Bar = 4 µm.



Şekil 9: Sdc 3 immunohistokimya boyası ile boyanmış insan amniyotik membran yapısı.
 ➡: Amniyotik epitel hücreler, →: stromal hücreler. Zemin boyama Mayers Hematoksilen (1) X100 Bar = 200 µm, (2) X400 OB Bar = 4 µm.



Şekil 10: Sdc 4 immunohistokimya boyası ile boyanmış insan amniyotik membran yapısı. ➡: Amniyotik epitel hücreler, →: stromal hücreler. Zemin boyama Mayers Hematoksilen (1) X100 Bar = 200 µm, (2) X400 OB Bar = 4 µm.

BİYOKİMYASAL BULGULAR:

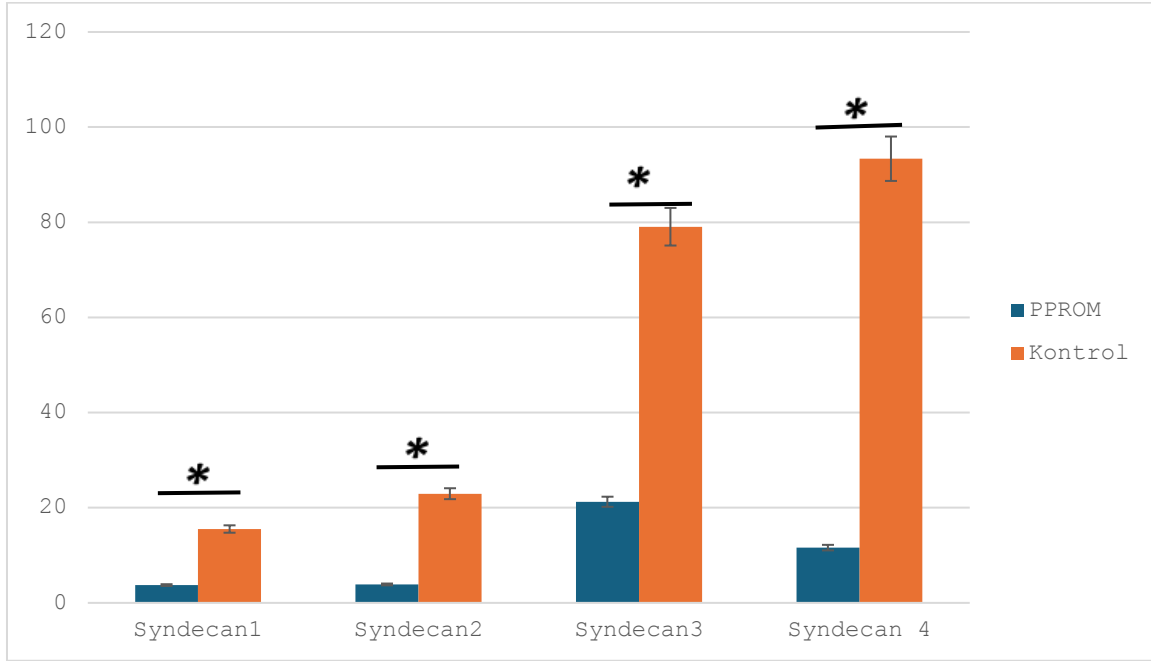
Hastalardan doğum öncesi alınan anne kanı sdc sonuçları incelendiğinde sdc1 ortalaması PPRom grubunda ortalama 3.7 kontrol grubunda ise ortalama 15.5 bulunmuş olup gruplar arasında istatistiksel anlamda fark saptanmıştır (p: 0.000). Sdc 2 PPRom grubunda ortalama 3.8 saptanırken kontrol grubunda 22.9 saptanmıştır ve istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur (p: 0.000). PPRom grubunda sdc 3 değeri ortalama 21.2 saptanırken kontrol grubunda 79.0 saptanmıştır ve gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark olduğu gözlenmiştir (p: 0.000). Sdc 4 değeri PPRom grubunda ortalama 11.6 kontrol grubunda ise ortalama 93.3 saptanmış ve gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur (p: 0.000). (Tablo 9) (Grafik 3)

Tablo 9. Gruplar arasında anne kanı sdc 1, sdc 2, sdc 3, sdc 4 biyokimya sonuçları açısından ort±sd değerleri.

Biokimya bulguları/ ELİSA (pg/ml)	PPROM Ort±SS	KONTROL Ort±SS	p
Syndecan 1	3.7 ± 1.8	15.5 ± 6.1	.000*
Syndecan 2	3.8 ± 2.2	22.9 ± 10.7	.000*

Syndecan 3	21.2 ± 16.2	79.0 ± 54.6	.000*
Syndecan 4	11.6 ± 5.8	93.3 ± 27.2	.000*

(*) Gruplar arasında anlamlı farklılıkları ifade eder.



Grafik 3: Gruplar arasında anne kanı sdc1, sdc 2, sdc 3, sdc 4 biyokimya sonuçları için morfolometrik veriler. Veriler Ortalama ± SS'dir.

5. TARTIŞMA

Günümüzde prematüritenin en önemli nedenlerinden biri olarak kabul edilen PPROM hem fetal hem de maternal açıdan ciddi komplikasyonlara yol açabilmektedir. Bu nedenle literatürde PPROM'a yönelik çalışmaların sayısı giderek artmaktadır. PPROM'un tanı, takip ve tedavisinde güvenilir biyobelirteçlere duyulan ihtiyaç ise halen devam etmekle birlikte en önemli kısmı bu tür hastaların öngörülebilirliği oluşturmaktadır. Biz de çalışmamızda sdc'ların PPROM ile ilişkisini hem histolojik hem de biyokimyasal olarak araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda PPROM grubunda kontrol grubuna kıyasla maternal serum ve plasental doku düzeylerinde sdc 1, 2, 3, 4 seviyelerinin düşmüş olması, bu proteinlerin membran stabilitesi ve ECM bütünlüğü açısından potansiyel bir rol oynadığını düşündürmektedir. Aynı zamanda PPROM grubunda WBC ve CRP düzeylerinin yüksek bulunması, inflamatuvar süreçlerin de patogeneizde etkin olduğunu işaret etmektedir.

Sdc'lar, hücre yüzeyinde heparan sülfat proteoglikanları olarak ekstrasellüler matriks (ECM) ile iletişimde yer alır, büyüme faktörleri, sitokinler ve proteazlarla etkileşerek doku bütünlüğünü düzenler. Bu açıdan, membran yapısını koruyucu bir bariyer rolü olduğu literatürde öne sürülmektedir. Örneğin Menon, PPRM'un membran dokusundaki inflamasyon-oksidatif stres ekseninde zayıflama yoluyla ortaya çıkan bir hastalık olduğunu belirtmiş; membran yıkımını hızlandıran yolların, ECM bileşenlerinin bozulması ile bağlantılı olduğunu vurgulamıştır (56).

ECM yıkımında kritik rol oynayan matriks metalloproteinazlar (MMP'ler), özellikle MMP-2, MMP-8 ve MMP-9, PPRM ile ilişkilendirilmiş ve inflamasyon ortamında upregülasyona uğradığı birçok çalışmada gösterilmiştir (57). Bu proteazlar kollajen ve diğer ECM bileşenlerini parçalayarak membran dayanıklılığını düşürebilir. Bizim çalışmamızda düşük sdc düzeylerinin yüksek proteaz aktivitesi veya artmış parçalanma ile ilişkili olabileceği hipotezi, bu literatürle uyumludur.

Ayrıca, fetal membranların hücre yaşlanması (senescence) ve "mikrokırıklar" oluşumu gibi yapısal bozulmalar, PPRM patolojisinde giderek daha fazla tanımlanan bir mekanizmadır (58). Bu mikrokırıklar, ECM içinde tünel benzeri boşluklar ve hücre geçirgenliği artışı sağlayarak membran bütünlüğünü bozabilir. Bu bağlamda, düşük sdc ekspresyonunun bu yapısal bozulma süreçlerine paralel bir belirteç olabileceği ileri sürülebilir.

Ağaoğlu ve arkadaşlarının yürüttükleri prospektif çalışmada, PPRM hastalarında maternal serum sdc 1 düzeyleri kontrollere göre anlamlı biçimde yüksek bulunmuş ve olumsuz perinatal sonuçlarla ilişkili olabileceği öne sürülmüştür. Ancak, bu sonuçların kesitsel ölçümlere dayanması nedeniyle dikkatli yorumlanması gerektiği vurgulanmıştır. Yürütülen bu prospektif gözlemsel çalışmada 24-34. gebelik haftalarında PPRM tanısı almış 64 hasta ve örnekleme sırasında gebelik yaşı, anne yaşı, gebelik ve doğum sayısı açısından eşleştirilmiş 64 sağlıklı gebe kadın dahil edilmiştir. Anne serum örnekleri toplanmış ve sdc 1 düzeyleri ELISA kullanılarak ölçülmüştür. Sonuç olarak anne serum sdc 1 düzeyleri, PPRM hastalarında kontrollere kıyasla anlamlı derecede daha yüksek ve olumsuz perinatal sonuç gelişimi ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Ancak, sdc 1 ölçümünün kesitsel yapısı ve olumsuz perinatal sonuçların multifaktöriyel etiyojisi, dikkatli bir yorumlama gerektirdiğinden bu ön bulguları doğrulamak ve klinik önemlerini daha iyi tanımlamak için seri ölçümler ve daha geniş kohortlar içeren prospektif çalışmalara ihtiyaç olduğu belirtilmiştir (59). Bu çalışmadaki bulgular, dokularda yıkım ve hücre yüzeyinden shedding (serbestleşme) mekanizmalarının artması sonucunda dolaşıma daha fazla sdc salınabileceği yönünde yorumlanabilir. Bizim çalışmamızda ise düşük seviyeler görülmesi, bu sürecin zamanlaması, dokusal tükenme, ölçüm anı veya farklı kit/metodoloji farkları gibi unsurlarla açıklanabilir. Bu durum, serum ve doku düzeylerinin ilişkisini netleştirmek adına zaman serileri ve eş zamanlı ölçümlerin önemini vurgulamaktadır.

Immonen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadaki amaç akut piyelonefritli kadınlarda plazma sdc 1 konsantrasyonunun bakteremi varlığında veya yokluğunda değişip değişmediğini göstermekti. Bu kesitsel çalışmaya üç grup dahil edildi: gebe olmayan kadınlar ($n = 25$); preterm ($n = 61$) veya termde ($n = 69$) toplanan komplikasyonsuz bir gebeliğe sahip kadınlar

ve ikinci ve üçüncü trimester sırasında tanı anında örnekleri toplanan akut piyelonefrit teşhisi konan gebe kadınlar ($n = 33$). Sonuç olarak plazma sdc 1 konsantrasyonu gebe kadınlarda daha yüksek ve gebelik yaşına bağlı olarak arttığı görülmüştür. Aynı şekilde akut piyelonefritli hastalarda sdc 1'in plazma konsantrasyonu daha yüksek ve bu özellikle bakteriyemi varlığında geçerli olduğu gösterilmiştir (45).

Greeley ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada amaç maternal sdc 1'in dolaşımdaki düzeylerinin 11-13. gebelik haftaları arasında değişip değişmediğini ve olumsuz gebelik sonuçları olan kadınlarda ilk trimester serum sdc 1 düzeylerinin kontrollerle karşılaştırıldığında anormal olup olmadığını belirlemektir. Northwell Health'te doğum yapan rastgele seçilen 300 kadından (her birinden 100'er adet olmak üzere 11, 12 ve 13. gebelik haftalarından) alınan kurutulmuş kan örnekleri sdc 1 düzeyleri açısından değerlendirilmiş ve alınan örnekler, kan alımı sırasında gebelik yaşına ve maternal kiloya göre ayrılmıştır. Gebelik yaşına özgü medyanlar, medyan sdc1 değerlerinin gebelik yaşına göre doğrusal regresyonu ile belirlendi. Medyanın katları (MoM) = sdc 1/ ilgili gebelik yaşına özgü regresyonlu medyan. Normal bir aralık belirledikten sonra vaka kontrol çalışması olarak vakalar ($n = 119$), 1. trimester konvansiyonel aneuploidi taramaları ile 20-36 6/7 hafta arasında doğum yapan preeklampsi veya fetal büyüme kısıtlaması olan tekil gebeliklerden; vaka başına 2 kontrol ($n = 238$) belirlenmiş ve değerlendirilmiştir. Sdc 1 düzeyleri ELISA ile belirlenmiştir. Veriler MoM olarak bildirilmiş ve Wilcoxon sıra toplamı testi ve Fisher'in kesin testi temelinde analiz edilmiştir. Gebelik haftaları 11-13 arasında dolaşımdaki medyan sdc 1 konsantrasyonlarında ilerleyici ve anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p < 0,001$). Vakalar ve kontroller arasında medyan sdc 1 MoM değerlerinde anlamlı bir fark yok ($p = 0,22$), ancak, vakaların bir alt grubunda (%17,6) uç sdc 1 değerleri ($\leq 0,5\text{MoM}$) var, kontrollerin ise %6,7'sinde ($p = 0,003$, OR = 3,0) ise bu değerler vardı. Serum sdc 1 konsantrasyonları gebeliğin 11-13. haftalarında önemli ölçüde artar. Son derece düşük 1. trimester serum sdc 1 değerleri, olumsuz gebelik sonuçları riskinin artmasıyla ilişkili olduğu görülmüştür (60).

Garcha ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada dolaşımdaki maternal sdc 1'i gebelik yaşına göre küçük (SGA) veya FGR olan gebelikler için bir biyobelirteç olarak değerlendirmeyi ve moleküler düzenlenmesini belirlemeyi amaçlamıştır. Yaklaşık 36 haftalık gebelikte toplanan büyük bir prospektif kohort ($n = 1206$), Manchester Antenatal Vasküler servisinden bir vaka kontrol çalışması (24-34 haftalık gebelikte örneklenen 285 kadın); doğum gününde toplanan iki prospektif kohort (36 + 3-41 + 3 haftalık gebelik, sırasıyla $n = 562$ ve $n = 405$) ve preterm FGR için doğum yapan bir kohort (< 34 hafta) grupta toplanan dolaşımdaki sdc 1, büyüme kısıtlılığı olan bebekleri doğuracak kadınlarda ve prematüre bebek doğuranlarda sürekli olarak azalmıştır. Sdc 1 salgılanması hipoksi nedeniyle azalmış ve azalması proliferasyonu bozmuştur. Ayrıca matriks metalloproteinazlar ve mitokondriyal elektron taşıma zinciri inhibitörleri, sdc 1 salgılanmasını önemli ölçüde azaltmış ve bu etki, bir mitokondriyal elektron taşıma zinciri aktivatörü olan süksinatın eş zamanlı uygulanmasıyla ortadan kaldırılmıştır. Sonuç olarak, dolaşımdaki sdc 1, term ve prematüre büyüme kısıtlılığı vakalarında azalmıştır ve yetersiz büyüyen fetüslerin tespitini iyileştirmek için çoklu belirteç algoritmalarına dahil edilme potansiyeline sahip olduğunu belirtmişler (61).

Güler ve arkadaşlarının yaptığı prospektif vaka kontrol çalışmasına 88 gebe kadın (44 intrahepatik kolestazlı gebe kadın ve 44 sağlıklı kontrol) dahil edildi. Bu çalışmada, intrahepatik kolestaz (İHK) tanısı alan gebelerde sdc1 ve glypican-3 proteinlerinin artışının perinatal kötü sonuçlar ve tedaviye dirençle ilişkisi araştırılmıştır. Bulgular, bu iki proteinin yüksek düzeylerinin kötü perinatal sonuçları (erken doğum, düşük Apgar skoru vb.) ve standart tedaviye yanıt vermeme riskini artırdığını göstermiştir. Sonuç olarak, sdc 1 ve glypican-3, İHK hastalarında kötü prognoz ve tedavi yanıtı tahmininde potansiyel biyobelirteçler olarak değerlendirilebilir (62).

Long ve arkadaşları yaptıkları çalışmada heparan sülfat, hyaluronan, kondroitin sülfat ve sdc 1 serum konsantrasyonlarının gestasyonel diabetes mellitus (GDM) belirlemede kullanılıp kullanılamayacağını araştırdılar. Bu çalışmada, gebeliğin 20. haftasında ölçülen endotelial glikokaliks bileşenlerinin (heparan sülfat, hyaluronan, kondroitin sülfat ve sdc 1 serum düzeylerinin, daha sonra gestasyonel diyabet gelişecek kadınlarda prediktif değeri araştırılmıştır. Gestasyonel diyabet tanısı alacak 20 kadın ile yaş, beden kitle indeksi ve etnisite açısından eşleştirilmiş 20 sağlıklı kontrol karşılaştırılmıştır. Bulgular, 20. haftadaki bu biyobelirteç düzeylerinin gruplar arasında anlamlı fark göstermediğini ve gestasyonel diyabet gelişimini öngörmeye yeterli olmadığını ortaya koymuştur (63).

O'Neil ve arkadaşlarının yaptığı araştırmanın amacı, rahim içinde koryoamniyona maruz kalan prematüre yenidoğanlarda sdc 1 serum seviyeleri ile sdc 1'in erken başlangıçlı neonatal sepsis biyobelirteci olma potansiyeli arasındaki ilişkiyi belirlemektir. 33 gebelik haftasından önce doğan prematüre yenidoğanlardan oluşan bir kohort çalışmaya dahil edilmiştir. Doğumdan sonraki 48 saat içinde, sdc 1 seviyelerini elde etmek için 0,5 mL kan alınmış ve ELISA ile ölçülmüştür. Sdc 1 seviyeleri, koryoamniyona maruz kalmayan prematüre yenidoğanlarla maruz kalan yenidoğanlar arasında karşılaştırılmıştır. Koryoamniyona maruz kalan prematüre yenidoğanların, maruz kalmayanlara kıyasla önemli ölçüde yüksek sdc 1 seviyelerine sahip olduğu bulunmuştur. Ayrıca, sdc 1 seviyesi erken başlangıçlı neonatal sepsisin teşhis ve tedavisine de yardımcı olabileceği gösterilmiştir (64).

Daha önce yapılan çalışmalarda, sdc 1'in epitel bariyer fonksiyonunda ve doku onarım süreçlerinde anahtar bir proteoglikan olduğu bildirilmiştir (65). PPRM olgularında amniyotik membran bütünlüğünün bozulması, büyük ölçüde inflamasyonun artması ve matriks metaloproteinaz (MMP) aktivasyonunun yükselmesiyle ilişkilidir (66)

Çalışmamızda; sdc 1 immün boyamasında PPRM grubunda plasenta sinsityotrofoblast ve stromal hücrelerinde zayıftan orta dereceye reaksiyon gözlenirken, kontrol grubunda orta derecede reaksiyon göstermesi dikkati çekti. Hem PPRM hem kontrol grubunda amniyon epitel hücrelerinde ve stromal hücrelerde ise daha zayıf reaksiyon gözlemlendi. Anne kanı biyokimyasında ise sdc 1 düzeyi PPRM grubunda kontrol grubundan belirgin zayıf izlendi. Bizim çalışmamızda gözlenen sdc 1 azalması, bu mekanizmanın bir yansıması olabilir.

Landgraf ve arkadaşlarının yaptığı metaanalitik çalışmada, pleiotrofin (PTN) ile sdc 2 ve sdc 3'ü Y-P30'un doğrudan bağlanma partnerleri olarak tanımlamışlar. PTN'nin, proteoglikan sdc 3 ile ilişkisi nedeniyle talamik nöronların nörit büyümesini desteklediği bilinmektedir. Y-P30, kendiliğinden oligomerizasyon yoluyla PTN ve potansiyel olarak sdc içeren büyük

makromoleküler kompleksleri yakalayabilir. Buna göre, talamik primer kültürlerde Y-P30'un nöritojenik aktivitesi, ortamda PTN'nin bulunmasını ve sdc'lara bağlanmasını gerektirir. Bu nedenle, Y-P30'un beyin gelişimi sırasında nörit çıkıntısını destekleyen etkilerinin, esasen PTN/sdc sinyal kompleksi ile olan ilişkisine dayandığını öne sürmüşler. Bu, sinir ve bağışıklık sistemi arasında, gelişim sırasında beyin bağlantılarını doğrudan etkileyebilecek yeni bir iletişim mekanizmasını tanımlamaktadır (67).

Hsiao-Tang Hu ve arkadaşlarının çalışmasında postsinaptik sdc 2, çift yönlü sinaptik oluşum için büyüme faktörü olan fibroblast büyüme faktörü 22'nin (FGF22) aracılığıyla transsinaptik sinyalleme başlattığı gösterilmiştir. Sdc 2 ile indüklenen dendritik dikenler sıklıkla presinaptik uçlarla ilişkilidir. Ancak, postsinaptik sdc 2'nin ilgili presinaptik uçların olgunlaşmasını nasıl hızlandırdığı bilinmemektedir. Bir heparan sülfat bağlayıcı FGF22'nin, postsinaptik bölgeden salınan bir presinaptik düzenleyici olarak hareket ettiği gösterildiğinden, postsinaptik sdc 2'nin presinaptik farklılaşmayı desteklemek için FGF22'yi presinaptik FGF reseptörüne sunması mümkün görünmektedir (68).

Çalışmamızda sdc 2 immün boyamasında PPRM grubunda plasenta sinsityotrofoblast ve stromal hücrelerinde orta derecede ekspresyon izlenirken, kontrol grubunda orta dereceden kuvvetliye değişen reaksiyon dikkati çekti. Amniyon zarı sdc 2 immün boyaması hem PPRM hem de kontrol grubunda (kontrol grubunda biraz fazla olmakla) orta dereceden kuvvetliye doğru değişen reaksiyon gösterdi. Anne kanı sdc 2 düzeyi ise kontrol grubunda PPRM grubundan belirgin farkla orta düzeyde anlamlı reaksiyon gösterdi.

Cluff ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada amaç uzamış doğum ile uterus dokusundaki sdc 3 ve connexin-43 adlı proteinlerin ifadesi arasındaki ilişki araştırılmıştır. Normal doğum yapan kadınlarla karşılaştırıldığında, uzun süren doğum yaşayan kadınların uterus dokusunda bu iki proteinin hem mRNA hem de protein düzeylerinin belirgin şekilde daha düşük olduğu bulunmuştur. Bulgular, bu moleküllerin rahim kasılmalarının koordinasyonu ve doğum sürecinin etkin ilerleyişinde önemli rol oynayabileceğini göstermektedir (69).

Russo LA ve arkadaşlarının sıçan uterusu üzerinde yaptığı çalışmada, steroid hormon 17 beta-estradiol tarafından sdc 3 ekspresyonu gösterilmiştir. Yumurtalıkları alınmış olgunlaşmamış hayvanlara fizyolojik doz (40 mikrogram/kg) 17 beta-estradiol uygulanması, sdc 3 mRNA'sında hızlı ve geçici bir artışa neden olmuş. Östrojenik ligandlar estriol ve tamoksifen de sdc 3 mRNA seviyelerini yükseltmede etkiliydi; ancak progesteron, 5 alfa-dihidrotestosteron ve deksametazon gibi östrojenik olmayan ligandlar, mRNA seviyelerinde bir değişiklik yaratmada başarısız olmuşlar. Hormon kaynaklı mRNA değişiklikleri, sdc 3 protein içeriğinde geçici değişikliklere ve endometriyal epitel hücrelerinde zamansal ve mekansal ifadede önemli değişikliklere yol açmıştır. Bu veriler topluca, steroid hormon 17 beta-estradiolün, östrojen reseptörüne bağlı bir mekanizma aracılığıyla uterusu sdc 3 geninin transkripsiyonunu düzenlediğini göstermektedir. Sdc 3'ün östrojenle düzenlenmesi uygun uterus gelişimi için kritik öneme sahip doku ultra yapısındaki değişikliklerde önemli bir rol oynadığını göstermişler (70).

Bizim çalışmamızda sdc 3 immün boyamasında PPRM grubunda plasenta sinsityotrofoblast ve stromal hücrelerinde orta derecede ekspresyon izlenirken, kontrol grubunda orta dereceden

kuvvetliye değişen reaksiyon dikkati çekti. Amniyon zarında sdc 3 immün boyaması kontrol grubunda daha fazla olmakla hem PPRom hem de kontrol grubunda orta dereceden kuvvetliye doğru değişen anlamlı reaksiyon gösterdi. Anne kanında ise sdc 3 düzeyinde PPRom grubunda zayıf reaksiyon gösterirken kontrol grubunda yüksek derecede ekspresyon izlendi.

Sdc 2 ve sdc 3 immün boyamaların gruplar arasında belirgin bir farkının gözlenmemesi, bu moleküllerin plasental ve amniyotik dokularda yapısal rolünün birbirlerinden çok ta farklı olmayabileceğini düşündürmektedir. Ancak önceki literatürlerde, bu iki proteoglikanın gebelik sürecinde anjiyogenez ve trofoblast invazyonu gibi olaylarda dolaylı etkilerinin olabileceği belirtilmiştir (71,72).

Charkiewicz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada preeklampsili 21 kadın ve komplikasyonsuz gebeliği olan 27 kadın dahil edilmiş, 40 proteinin analizine olanak sağlayan kantitatif bir protein makro dizisi kullanılmıştır. Preeklampsili kadınların plazmasında DR3 ve LIF konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı artış, VEGF, PlGF, sdc 4 ve galektin 2 konsantrasyonlarında ise anlamlı azalma bulunmuştur (73).

Jeyarajah ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, sdc 4 proteininin ekstravillöz trofoblastların (EVT) göçü üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Yapılan hücre kültürü deneylerinde sdc 4'ün, protein kinase C-alfa (PKC α) aktivasyonunu koordine ederek EVT hücrelerinin göç ve invazyonunu desteklediği gösterilmiştir. Sdc 4 ifadesi azaltıldığında, bu hücrelerin hareketliliği ve invazyon kapasitesi belirgin şekilde azalmış, aynı zamanda PKC α ve AKT fosforilasyonu da düşmüştür. Sonuç olarak sdc 4, trofoblast hücrelerinin plasental invazyon sürecinde önemli bir düzenleyici olarak tanımlanmıştır (74).

Shanz ve arkadaşları yaptığı çalışmada, plasental doku kesitlerinde ve izole sitotrofoblastlarda immünolokalizasyon yoluyla maternal-fetal arayüzde CXCR7 ve sdc 4 ekspresyonunu incelemişler. Verileri doğrulamak için immüno blot analizleri kullanan ekip sitotrofoblastların her iki reseptörü de ifade ettiğini ve sitotrofoblastların invaziv fenotipe doğru farklılaşma süreci sırasında yukarı regülasyonun meydana geldiğini göstermişler. İşlevsel düzeyde CXCR7, JAR hücre kemotaksisinde rol oynamıyor gibi görünmekte ve bu da bu reseptörün farklı bir işlevi olduğunu düşündürmektedir. Sonuç olarak, CXCL12'nin CXCR4'e, ayrıca CXCR7 ve sdc 4'e de bağlandığını öne sürmüşler. Bu üç reseptör, CXCL12'nin hücre göçü, yönlendirilmiş invazyon, proliferasyon ve sağkalım gibi farklı işlevlerine aracılık ediyor olabileceğini vurgulamışlar. Ayrıca preeklampsisi veya koryokarsinom büyümesi gibi plasenta patolojilerinin gelişiminde de rol oynuyor olabilir (75).

Sdc 4, hücre migrasyonu, fibroblast aktivasyonu ve yara iyileşmesinde görev alan bir proteindir (76). PPRom grubunda sdc 4 düzeylerinin azalması, membran tamir mekanizmalarının yetersiz kaldığını düşündürmektedir. Benzer şekilde, amniyon zarında düşük sdc 4 ekspresyonu, inflamatuvar sitokinlerin artışıyla da ilişkilendirilmiştir (77).

Bizim çalışmamızda sdc 4 immün boyamasında ise hem PPRom grubunda hem de kontrol grubunda plasenta sinsityotrofoblast ve stromal hücrelerinde orta derecede ekspresyon izlendi. Amniyon zarında sdc 4 immün boyaması da hem PPRom hem de kontrol grubunda zayıftan orta dereceye doğru değişen reaksiyon gösterdi. Anne kanında ise sdc 4 düzeyi PPRom

grubunda zayıf ekspresyon gösterirken kontrol grubunda yüksek reaksiyon göstermekle dikkat çekti.

PPROM'un klinik sonuçlarına bakıldığında, membran rüptürünün gestasyon haftası ile ters orantılı olması beklenir; bizim verimiz de doğum haftasının PPRM grubunda anlamlı şekilde daha düşük olduğunu göstermiştir. Bu, zar hasar mekanizmalarının inflamasyon temelli süreçlerle birlikte gestasyonel süreyi kısaltabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızın bulgularından çıkarılabilecek klinik ve araştırma açısından çıkarımlar şunlardır; eğer sdc düşüklüğü PPRM ile tutarlı şekilde gözleniyorsa, maternal serum veya doku sdc düzeyleri PPRM riski açısından biyobelirteç adayları olabilir. MMP, sitokin (ör. IL-6, TNF- α) ve diğer inflamatuvar belirteçlerle entegre analizler, PPRM patogenezinin çok katmanlı doğasını açığa çıkarabilir. Temel araştırmalarda, in vitro membran modellerinde sdc modülasyonu (örn. artmış ekspresyon ya da inhibisyon) ile membran dayanıklılığı üzerine etkiler incelenebilir.

Bu çalışmanın sınırlılıkları da göz önünde bulundurulmalıdır: örneklem büyüklüğünün nispeten küçük olması, sadece tek zaman noktası ölçümler yapılması ve yöntemsel farklılıkların (ELISA kit farklılıkları, immünohistokimya değerlendirme standardizasyonu) doğrudan literatürle karşılaştırmayı zorlaştırması bu bulguların genellenebilirliğini sınırlar. Bu nedenle, ileri çalışmalarda seri ölçümler, çok merkezli örneklem, MMP / ECM bileşenlerinin eş zamanlı incelenmesi önerilmektedir. Bununla birlikte, araştırmanın doğası gereği PPRM grubundaki olgular daha erken gebelik haftalarında doğurtulmuştur. Bu durum, doku ve kan örneklerinin alındığı gebelik haftasında PPRM ve kontrol grupları arasında fark oluşmasına yol açmış olup, çalışmanın başlıca sınırlılıklarından biri olarak değerlendirilmektedir.

Sonuç olarak, bizim çalışmamızda anne kanında sdc 1, sdc 2, sdc 3 ve sdc 4 düzeylerinde azalma olduğunu göstererek, ECM-doku bütünlüğü, membran dayanıklılığı ve inflamasyon ile PPRM arasında potansiyel bağlantıları desteklemektedir. Bu sonuçlar, PPRM'un tanı ve öngörülebilirliğe yönelik biyobelirteç / terapötik hedef arayışları açısından umut vadeder; ancak daha geniş, prospektif ve mekanistik çalışmalarda doğrulanmalıdır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, PPRM gelişen gebelerde maternal serum biyokimyasal parametreleri ile plasenta ve amniyon zarında sdc ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı farklılıklar saptanmıştır. Literatür tarandığında, PPRM ile sdc düzeyleri arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmaların oldukça sınırlı olduğu görülmektedir. Bu yönüyle araştırmamız, konuyla ilgili önemli bir bilgi boşluğunu doldurmaya katkı sağlamaktadır.

Çalışmamızın temel konularından biri olan PPRM, erken doğumun başlıca nedenlerinden biri olmaya devam etmekte ve çok sayıda maternal-fetal komplikasyona yol açmaktadır. Bu nedenle

tanı, tedavi ve önlemeye yönelik araştırmaların sürmesi büyük önem taşımaktadır. Diğer temel konumuz olan sdc ise hücre yüzeyine özgü transmembran bir proteoglikandır. Hakkında sınırlı sayıda çalışma bulunması nedeniyle, araştırmamızın amacı doku bütünlüğünün bozulduğu PPRM olgularında sdc ile olası ilişkiyi ortaya koyarak erken tanı ve koruyucu yaklaşımlar için yeni veriler elde etmektir.

PPROM grubunda anne yaşı, vücut kitle indeksi, gebelik haftası ve bebek doğum ağırlığı kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Bu durum, zarların erken yırtıldığı gebeliklerde maternal-fetal gelişim sürecinin kısaldığını göstermektedir. Ayrıca, PPRM olgularında WBC ve CRP düzeylerinin yüksek bulunması, inflamatuvar yanıtın arttığını ve enfeksiyonun patogeneze rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak bulgularımızda, PPRM grubunda sdc 1, 2, 3 ve 4 ekspresyonlarının plasenta dokusunda ve maternal kanda azaldığı, amniyon epitel hücrelerinde ise sdc 1 ve sdc 4 düzeyinde yükseliş saptanırken, sdc 2 ve sdc 3 düzeyinde azalma olduğu gösterilmiştir.

Elde edilen veriler sdc ailesinin gebelikte epitel bütünlüğü, hücre-matriks etkileşimi ve inflamatuvar yanıtın düzenlenmesi gibi süreçlerde önemli rol oynadığını; bu proteinlerdeki azalmalarının zar dayanıklılığını bozarak PPRM gelişimine zemin hazırlayabileceğini göstermektedir.

Öneriler:

1. Maternal serum sdc düzeylerinin ölçümü, PPRM riski taşıyan gebelerin erken dönemde saptanmasına yardımcı olabilir.
2. Gelecekteki araştırmalarda, sdc ailesinin inflamasyonla ilişkili moleküler yollar (örneğin IL-6, TNF- α , MMP-9) ile etkileşimi ayrıntılı biçimde incelenmelidir.
3. Koruyucu stratejiler geliştirilirken, beslenme, oksidatif stres ve enfeksiyon kontrolü gibi faktörlerin sdc ekspresyonu üzerindeki etkileri dikkate alınmalıdır.
4. Bulgular, PPRM'un patogenezinde hücre dışı matriks bileşenlerinin potansiyel biyobelirteç veya hedeflenebilir tedavi noktaları olabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Mercer, Brian M. MD. Preterm Premature Rupture of the Membranes. *Obstetrics & Gynecology* 101(1):p 178-193, January 2003
2. Bourne GL. The anatomy of the human amnion and chorion. *Proc R Soc Med*. 1966 Nov;59(11 Part 1):1127-8. PMID: 5954257; PMCID: PMC1901296.
3. BOURNE G. The foetal membranes. A review of the anatomy of normal amnion and chorion and some aspects of their function. *Postgrad Med J*. 1962 Apr;38(438):193-201. doi: 10.1136/pgmj.38.438.193. PMID: 13871927; PMCID: PMC2482459.
4. Mamede AC, Carvalho MJ, Abrantes AM, Laranjo M, Maia CJ, Botelho MF. Amniotic membrane: from structure and functions to clinical applications. *Cell Tissue Res*. 2012 Aug;349(2):447-58. doi: 10.1007/s00441-012-1424-6. Epub 2012 May 18. PMID: 22592624.
5. Mühlhauser J, Crescimanno C, Rajaniemi H, Parkkila S, Milovanov AP, Castellucci M, Kaufmann P. Immunohistochemistry of carbonic anhydrase in human placenta and fetal membranes. *Histochemistry*. 1994 Feb;101(2):91-8. doi: 10.1007/BF00269354. PMID: 8071088.
6. Brace RA. Physiology of amniotic fluid volume regulation. *Clin Obstet Gynecol*. 1997 Jun;40(2):280-9. doi: 10.1097/00003081-199706000-00005. PMID: 9199840.
7. Chamberlain PF, Manning FA, Morrison I, Harman CR, Lange IR. Ultrasound evaluation of amniotic fluid volume. I. The relationship of marginal and decreased amniotic fluid volumes to perinatal outcome. *Am J Obstet Gynecol*. 1984 Oct 1;150(3):245-9. doi: 10.1016/s0002-9378(84)90359-4. PMID: 6385713.
8. Beall MH, van den Wijngaard JP, van Gemert MJ, Ross MG. Amniotic fluid water dynamics. *Placenta*. 2007 Aug-Sep;28(8-9):816-23. doi: 10.1016/j.placenta.2006.11.009. Epub 2007 Jan 23. PMID: 17254633.
9. Brace RA, Wolf EJ. Normal amniotic fluid volume changes throughout pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 1989 Aug;161(2):382-8. doi: 10.1016/0002-9378(89)90527-9. PMID: 2764058.
10. Crellin HB, Singh V. Sonography Evaluation of Amniotic Fluid. [Updated 2025 Jan 22]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK570623/>
11. Kayem G, Girard G. Gestion anténatale du risque d'infection amnio-choriale en cas de rupture prématurée des membranes avant 37 semaines d'aménorrhée [Prenatal management of the risk of maternofetal infection in cases of PPRM]. *Arch Pediatr*. 2015 Oct;22(10):1056-63. French. doi: 10.1016/j.arcped.2015.03.025. Epub 2015 Aug 21. PMID: 26303021.
12. Tchirikov, Michael, Schlabritz-Loutsevitch, Natalia, Maher, James, Buchmann, Jörg, Naberezhnev, Yuri, Winarno, Andreas S. and Seliger, Gregor. "Mid-trimester preterm premature rupture of membranes (PPROM): etiology, diagnosis, classification, international

recommendations of treatment options and outcome" *Journal of Perinatal Medicine*, vol. 46, no. 5, 2018, pp. 465-488. <https://doi.org/10.1515/jpm-2017-0027>

13. Malak TM, Bell SC. Structural characteristics of term human fetal membranes: a novel zone of extreme morphological alteration within the rupture site. *Br J Obstet Gynaecol*. 1994 May;101(5):375-86. doi: 10.1111/j.1471-0528.1994.tb11908.x. PMID: 8018607.

14. Maymon E, Romero R, Pacora P, Gomez R, Athayde N, Edwin S, Yoon BH. Human neutrophil collagenase (matrix metalloproteinase 8) in parturition, premature rupture of the membranes, and intrauterine infection. *Am J Obstet Gynecol*. 2000 Jul;183(1):94-9. doi: 10.1067/mob.2000.105344. PMID: 10920315.

15. Helmig, B. R., Romero, R., Espinoza, J., Chaiworapongsa, T., Bujold, E., Gomez, R., ... Uldbjerg, N. (2002). Neutrophil elastase and secretory leukocyte protease inhibitor in prelabor rupture of membranes, parturition and intra-amniotic infection. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 12(4), 237–246. <https://doi.org/10.1080/jmf.12.4.237.246>

16. Harger JH, Hsing AW, Tuomala RE, Gibbs RS, Mead PB, Eschenbach DA, Knox GE, Polk BF. Risk factors for preterm premature rupture of fetal membranes: a multicenter case-control study. *Am J Obstet Gynecol*. 1990 Jul;163(1 Pt 1):130-7. doi: 10.1016/s0002-9378(11)90686-3. PMID: 2197863.

17. Lee WL, Chang WH, Wang PH. Risk factors associated with preterm premature rupture of membranes (PPROM). *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2021 Sep;60(5):805-806. doi: 10.1016/j.tjog.2021.07.004. PMID: 34507652.

18. Samejima T, Yamashita T, Takeda Y, Adachi T. Identifying the associated factors with onset of preterm PROM compared with term PROM - A retrospective cross-sectional study. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2021 Jul;60(4):653-657. doi: 10.1016/j.tjog.2021.05.012. PMID: 34247802.

19. Kişnişçi , Gökşin,Durukan, Üstay,Ayhan, Gürkan, Önderoğlu.Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. 1481-1489, 1996.

20. Ramsauer B, Vidaeff AC, Hösli I, Park JS, Strauss A, Khodjaeva Z, et al. The diagnosis of rupture of fetal membranes (ROM): a meta-analysis. *Journal of perinatal medicine*. 2013;41(3):233-40.

21. Alexander JM, Mercer BM, Miodovnik M, et al. The impact of digital cervical examination on expectantly managed preterm rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol*. 2000;183: 1003–1007.

22. Schutte, M., et al., Management of premature rupture of membranes: the risk of vaginal examination to the infant. *American journal of obstetrics and gynecology*, 1983. 146(4): p. 395-400.

23. Medina TM, Hill DA. Preterm premature rupture of membranes: diagnosis and management. *American family physician*. 2006;73(4):659-64.

24. Prelabor Rupture of Membranes: ACOG Practice Bulletin, Number 217. *Obstet Gynecol.* Mar 2020;135(3):e80-97
25. Committee Opinion No. 713: Antenatal Corticosteroid Therapy for Fetal Maturation. *Obstet Gynecol.* 2017;130(2):e102-e9
26. B. M. Mercer et al., "What we have learned regarding antibiotic therapy for the reduction of infant morbidity after preterm premature rupture of the membranes," *Semin Perinatol*, vol. 27, no. 3, pp. 217–230, Jun. 2003, doi:10.1016/S0146-0005(03)00016-8.
27. J. Lee, R. Romero, S. M. Kim, P. Chaemsaihong, and B. H. Yoon, "A new antibiotic regimen treats and prevents intra-amniotic inflammation/infection in patients with preterm PROM," *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, vol. 29, no. 17, pp. 2727–2737, Sep. 2016, doi:10.3109/14767058.2015.1103729.
28. D. Mackeen, J. Seibel-Seamon, J. Muhammad, J. K. Baxter, and V. Berghella, "Tocolytics for preterm premature rupture of membranes," *Cochrane Database of Systematic Reviews*, Feb. 2014, doi:10.1002/14651858.CD007062.pub3.
29. C. Crowther and L. Doyle, "Magnesium sulphate prior to preterm birth for neuroprotection of the fetus," in *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 68 L. Doyle, Ed., Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2004. doi:10.1002/14651858.CD004661.
30. Yu H, Wang X, Gao H, You Y, Xing A. Perinatal outcomes of pregnancies complicated by preterm premature rupture of the membranes before 34 weeks of gestation in a tertiary center in China: A retrospective review. *Biosci Trends*. 2015;9(1):35-41.
31. D. P. Ascher et al., "Failure of intrapartum antibiotics to prevent culture-proved neonatal group B streptococcal sepsis.," *J Perinatol*, vol. 13, no. 3, pp. 212–6, 1993.
32. K. S. Joseph et al., "Determinants of Preterm Birth Rates in Canada from 1981 through 1983 and from 1992 through 1994," *New England Journal of Medicine*, vol. 339, no. 20, pp. 1434–1439, Nov. 1998, doi:10.1056/NEJM199811123392004.
33. Caughey AB, Robinson JN, Norwitz ER. Contemporary diagnosis and management of preterm premature rupture of membranes. *Rev Obstet Gynecol.* 2008 Winter; 1(1): 11–22.
34. Gopal S, Arokiasamy S, Pataki C, Whiteford JR, Couchman JR. Syndecan receptors: pericellular regulators in development and inflammatory disease. *Open Biol.* 2021 Feb;11(2):200377. doi: 10.1098/rsob.200377. Epub 2021 Feb 10. PMID: 33561383; PMCID: PMC8061687.
35. Ishiguro K, Kadomatsu K, Kojima T, Muramatsu H, Nakamura E, Ito M, et al. Syndecan-4 deficiency impairs the fetal vessels in the placental labyrinth. *Developmental dynamics* : an official publication of the American Association of Anatomists. 2000;219(4):539-44.
36. Volk R, Schwartz JJ, Li J, Rosenberg RD, Simons M. The role of syndecan cytoplasmic domain in basic fibroblast growth factor-dependent signal transduction. *The Journal of biological chemistry*. 1999;274(34):24417-24.

37. Kojima T, Katsumi A, Yamazaki T, Muramatsu T, Nagasaka T, Ohsumi K, et al. Human ryudocan from endothelium-like cells binds basic fibroblast growth factor, midkine, and tissue factor pathway inhibitor. *The Journal of biological chemistry*. 1996;271(10):5914-20.
38. Crescimanno C, Marzioni D, Paradinas FJ, Schrurs B, Mühlhauser J, Todros T, et al. Expression pattern alterations of syndecans and glypican-1 in normal and pathological trophoblast. 1999;189(4):600-8.
39. Lanir N, Aharon A, Brenner B. Procoagulant and anticoagulant mechanisms in human placenta. *Seminars in thrombosis and hemostasis*. 2003;29(2):175-84.
40. Chui A, Zainuddin N, Rajaraman G, Murthi P, Brennecke SP, Ignjatovic V, et al. Placental syndecan expression is altered in human idiopathic fetal growth restriction. *The American journal of pathology*. 2012;180(2):693-702.
41. Keller-Pinter A, Gyulai-Nagy S, Becsky D, Dux L, Rovo L. Syndecan-4 in Tumor Cell Motility. *Cancers (Basel)*. 2021 Jul 1;13(13):3322. doi: 10.3390/cancers13133322. PMID: 34282767; PMCID: PMC8268284.
42. Juusela A, Jung E, Gallo DM, Bosco M, Suksai M, Diaz-Primera R, et al. Maternal plasma syndecan-1: a biomarker for fetal growth restriction. 2023;36(1):2150074.
43. Johansson PI, Stensballe J, Rasmussen LS, Ostrowski SRJAos. A high admission syndecan-1 level, a marker of endothelial glycocalyx degradation, is associated with inflammation, protein C depletion, fibrinolysis, and increased mortality in trauma patients. 2011;254(2):194-200.
44. Patterson AM, Cartwright A, David G, Fitzgerald O, Bresnihan B, Ashton BA, et al. Differential expression of syndecans and glypicans in chronically inflamed synovium. 2007.
45. Alexopoulou AN, Multhaupt HA, Couchman JRJTijob, biology c. Syndecans in wound healing, inflammation and vascular biology. 2007;39(3):505-28.
46. Immonen T, Jung E, Gallo DM, Diaz-Primera R, Gotsch F, Whittaker P, Than NG, Bosco M, Tarca AL, Suksai M, Romero R, Chaiworapongsa T. Acute pyelonephritis in pregnancy and plasma syndecan-1: evidence of glycocalyx involvement. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2023 Dec;36(1):2155041. doi: 10.1080/14767058.2022.2155041. PMID: 36642424; PMCID: PMC10352999.
47. Jokimaa VI, Kujari HP, Ekholm EM, Inki PL, Anttila L. Placental expression of syndecan 1 is diminished in preeclampsia. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2000;183(6):1495-8.
48. Szabo S, Xu Y, Romero R, Fule T, Karaszi K, Bhatti G, et al. Changes of placental syndecan-1 expression in preeclampsia and HELLP syndrome. 2013;463:445-58.

49. Lorenzi T, Turi A, Crescimanno C, Morroni M, Castellucci M, David G, Tranquilli AL, Marzioni D. Syndecan expressions in the human amnion and chorionic plate. *Eur J Histochem*. 2010 Oct 27;54(4):e42. doi: 10.4081/ejh.2010.e42. PMID: 21263741; PMCID: PMC3167323.
50. Reizes O, Clegg DJ, Strader AD, Benoit SCJP. A role for syndecan-3 in the melanocortin regulation of energy balance. 2006;27(2):274-80.
51. Zheng Q, Zhu J, Shanabrough M, Borok E, Benoit SC, Horvath TL, et al. Enhanced anorexigenic signaling in lean obesity resistant syndecan-3 null mice. 2010;171(4):1032-40.
52. de Witte L, Bobardt M, Chatterji U, Degeest G, David G, Geijtenbeek TB, et al. Syndecan-3 is a dendritic cell-specific attachment receptor for HIV-1. 2007;104(49):19464-9.
53. Yeşil Sarsmaz H, Gürgen SG, Cansu A, Türkmen S, Gündüz A. The relationship between oxidative stress and apoptosis of histopathological changes in the ovary made by mad honey containing grayanotoxin. *Food Chem Toxicol*. 2024 May;187:114634. doi: 10.1016/j.fct.2024.114634. Epub 2024 Apr 4. PMID: 38582344.
54. Taş S, Sarsmaz K, Yeşil Sarsmaz H, Gürgen SG, Taş Ü, Eyüboğlu M, Arı Z. Gestasyonel Hipertansiyonu Olan Gebelerde Serum Nöropeptid FFR2, Serum Smoothelin ve Gebelik Sonuçları Arasındaki İlişki [The Relationship between Serum Neuropeptide FFR2, Serum Smoothelin and Pregnancy Outcomes in Pregnant Women with Gestational Hypertension]. *Türk Kardiyol Dern Ars*. 2024 Oct;52(7):510-518. Turkish. doi: 10.5543/tkda.2024.10241. PMID: 39397407.
55. Szabo S, Xu Y, Romero R, Fule T, Karaszi K, Bhatti G, Varkonyi T, Varkonyi I, Krenacs T, Dong Z, Tarca AL, Chaiworapongsa T, Hassan SS, Papp Z, Kovalszky I, Than NG. Changes of placental syndecan-1 expression in preeclampsia and HELLP syndrome. *Virchows Arch*. 2013 Sep;463(3):445-58. doi: 10.1007/s00428-013-1426-0. Epub 2013 Jun 27. PMID: 23807541; PMCID: PMC3939785.
56. Menon R, Richardson LS. Preterm prelabor rupture of the membranes: A disease of the fetal membranes. *Semin Perinatol*. 2017 Nov;41(7):409-419. doi: 10.1053/j.semperi.2017.07.012. Epub 2017 Aug 12. PMID: 28807394; PMCID: PMC5659934.
57. Nguyen LM, Aronoff DM, Eastman AJ. Matrix metalloproteinases in preterm prelabor rupture of membranes in the setting of chorioamnionitis: A scoping review. *Am J Reprod Immunol*. 2023 Jan;89(1):e13642. doi: 10.1111/aji.13642. Epub 2022 Nov 9. PMID: 36300889; PMCID: PMC11729612.
58. Mikkelsen E, Huppertz B, Singh R, Ravn K, Hatt L, Kruhøffer M, Urrabaz-Garza R, Uldbjerg N, Menon R, Steiniche T. mRNA and Protein Expression in Human Fetal Membrane Cells: Potential Biomarkers for Preterm Prelabor Rupture of the Fetal Membranes? *Int J Mol Sci*. 2023 Oct 31;24(21):15826. doi: 10.3390/ijms242115826. PMID: 37958809; PMCID: PMC10650701.
59. Ağaoğlu RT, Çirkin Tekeş G, Oğuz Y, Akın F, Bayrak AÇ, Filiz AA, Akbulut ÖV, Pay RE, Yakut Yücel K. Maternal serum syndecan-1 levels in preterm prelabor rupture of membranes

and potential predictor of adverse perinatal outcomes: A case-control study. *Int J Gynaecol Obstet.* 2025 Oct;171(1):326-336. doi: 10.1002/ijgo.70408. Epub 2025 Jul 28. PMID: 40719262.

60. Greeley ET, Rochelson B, Krantz DA, Xue X, Carmichael JB, Ashour S, Woo S, Augustine S, Metz CN. Evaluation of Syndecan-1 as a Novel Biomarker for Adverse Pregnancy Outcomes. *Reprod Sci.* 2020 Jan;27(1):355-363. doi: 10.1007/s43032-019-00032-5. Epub 2020 Jan 6. PMID: 32046458

61. Garcha D, Walker SP, MacDonald TM, Hyett J, Jellins J, Myers J, Illanes SE, Nien JK, Schepeler M, Keenan E, Whigham CA, Cannon P, Murray E, Nguyen TV, Kandel M, Masci J, Murphy C, Cruickshank T, Pritchard N, Hannan NJ, Brownfoot F, Roddy Mitchell A, Middleton A, Pell G, Wong GP, Tong S, Kaitu'u-Lino TJ. Circulating syndecan-1 is reduced in pregnancies with poor fetal growth and its secretion regulated by matrix metalloproteinases and the mitochondria. *Sci Rep.* 2021 Aug 16;11(1):16595. doi: 10.1038/s41598-021-96077-1. PMID: 34400721; PMCID: PMC8367987.

62. Gümüş Güler B, Özler S. Increased syndecan-1 and glypican-3 predict poor perinatal outcome and treatment resistance in intrahepatic cholestasis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2020 Jun;19(3):271-276. doi: 10.1016/j.hbpd.2019.12.001. Epub 2019 Dec 14. PMID: 31919038.

63. Long DS, Hou W, Taylor RS, McCowan LM. Serum levels of endothelial glycocalyx constituents in women at 20 weeks' gestation who later develop gestational diabetes mellitus compared to matched controls: a pilot study. *BMJ Open.* 2016 Dec 15;6(12):e011244. doi: 10.1136/bmjopen-2016-011244. PMID: 27979833; PMCID: PMC5168613.

64. O'Neil M, Demeulenaere SK, DeChristopher PJ, Holthaus E, Jeske W, Glynn L, Husain A, Muraskas J. Syndecan-1 Level, a Marker of Endothelial Glycocalyx Degradation, Is Associated With Fetal Exposure to Chorioamnionitis and Is a Potential Biomarker for Early-Onset Neonatal Sepsis. *Pediatr Dev Pathol.* 2024 Jul-Aug;27(4):318-326. doi: 10.1177/10935266241235504. Epub 2024 Apr 14. PMID: 38616561.

65. Fears CY, Woods A. The role of syndecans in disease and wound healing. *Matrix Biol.* 2006 Sep;25(7):443-56. doi: 10.1016/j.matbio.2006.07.003. Epub 2006 Jul 14. PMID: 16934444.

66. Feduniw S, Pruc M, Ciebia M, Zeber-Lubecka N, Massalska D, Zgliczynska M, Pawlowska A, Szarpak L. Biomarkers for Pregnancy Latency Prediction after Preterm Premature Rupture of Membranes-A Systematic Review. *Int J Mol Sci.* 2023 Apr 28;24(9):8027. doi: 10.3390/ijms24098027. PMID: 37175733; PMCID: PMC10178250.

67. The Survival-promoting Peptide Y-P30 Enhances Binding of Pleiotrophin to Syndecan-2 and -3 and Supports Its Neuritogenic Activity * Landgraf, Peter et al. *Journal of Biological Chemistry*, Volume 283, Issue 36, 25036 – 25045

68. Hu HT, Umemori H, Hsueh YP. Postsynaptic SDC2 induces transsynaptic signaling via FGF22 for bidirectional synaptic formation. *Sci Rep*. 2016 Sep 15;6:33592. doi: 10.1038/srep33592. PMID: 27627962; PMCID: PMC5024341.
69. Cluff AH, Byström B, Klimaviciute A, Dahlqvist C, Cebers G, Malmström A, Ekman-Ordeberg G. Prolonged labour associated with lower expression of syndecan 3 and connexin 43 in human uterine tissue. *Reprod Biol Endocrinol*. 2006 May 4;4:24. doi: 10.1186/1477-7827-4-24. PMID: 16674815; PMCID: PMC1475867.
70. Russo LA, Calabro SP, Filler TA, Carey DJ, Gardner RM. In vivo regulation of syndecan-3 expression in the rat uterus by 17 beta-estradiol. *J Biol Chem*. 2001 Jan 5;276(1):686-92. doi: 10.1074/jbc.M004106200. PMID: 11024013.
71. Noguer O, Villena J, Lorita J, Vilaró S, Reina M. Syndecan-2 downregulation impairs angiogenesis in human microvascular endothelial cells. *Exp Cell Res*. 2009 Mar 10;315(5):795-808. doi: 10.1016/j.yexcr.2008.11.016. Epub 2008 Dec 3. PMID: 19073173.
72. De Rossi G, Whiteford JR. A novel role for syndecan-3 in angiogenesis. *F1000Res*. 2013 Dec 9;2:270. doi: 10.12688/f1000research.2-270.v1. PMID: 24555114; PMCID: PMC3886797.
73. Charkiewicz K, Goscik J, Raba G, Laudanski P. Syndecan 4, galectin 2, and death receptor 3 (DR3) as novel proteins in pathophysiology of preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2021 Sep;34(18):2965-2970. doi: 10.1080/14767058.2019.1676410. Epub 2019 Oct 13. PMID: 31608721.
74. Jeyarajah MJ, Jaju Bhattad G, Kops BF, Renaud SJ. Syndecan-4 regulates extravillous trophoblast migration by coordinating protein kinase C activation. *Sci Rep*. 2019 Jul 15;9(1):10175. doi: 10.1038/s41598-019-46599-6. PMID: 31308409; PMCID: PMC6629623.
75. Schanz A, Baston-Bust D, Krussel JS, Heiss C, Janni W, Hess AP. CXCR7 and syndecan-4 are potential receptors for CXCL12 in human cytotrophoblasts. *J Reprod Immunol*. 2011 Apr;89(1):18-25. doi: 10.1016/j.jri.2011.01.016. Epub 2011 Apr 5. PMID: 21470690.
76. Couchman JR. Transmembrane signaling proteoglycans. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2010;26:89-114. doi: 10.1146/annurev-cellbio-100109-104126. PMID: 20565253.
77. Lorenzi T, Turi A, Crescimanno C, Morroni M, Castellucci M, David G, Tranquilli AL, Marzioni D. Syndecan expressions in the human amnion and chorionic plate. *Eur J Histochem*. 2010 Oct 27;54(4):e42. doi: 10.4081/ejh.2010.e42. PMID: 21263741; PMCID: PMC3167323.