

Genital Aktinomikoz Gelişiminde Rol Oynayan Faktörler

Dilek Kaya¹, Şayeste Demirezen¹, Mehmet Sinan Beksaç²

Özet: *Actinomyces türleri genital sistem mukozal yüzeylerinin normal flora elemanları olmakla birlikte, bu mukozal yüzeylerde meydana gelen zedelenmelere bağlı olarak fırsatçı infeksiyonlara neden olabilmektedirler. Actinomyces türlerinin infeksiyona nasıl yol açtıkları tam olarak anlaşılammış olmasına rağmen, konak hücrelerine tutunmanın infeksiyon oluşumunda ilk ve en önemli basamak olduğu bilinmektedir. Bu derlemede, Actinomyces türlerinin vaginal epitel hücrelerine, nötrofil lökositlere, eritrositlere, diğer mikroorganizmalara ve birbirlerine nasıl tutundukları ve aktinomikotik infeksiyon oluşumuna zemin hazırlayan bazı faktörler literatür bilgileri eşliğinde tartışılmıştır.*

Anahtar Sözcükler: *Actinomyces, virülans faktörleri, tutunma, pilus, nöraminidaz enzimi.*

Summary: *The factors playing roles in the development of genital actinomycosis. Actinomyces species can cause opportunistic infections due to the disruption of mucosal surface of genital system although they are the normal inhabitants of this surface. Adhesion of bacteria to host tissues is a vital step in pathogenicity. However, the whole biologic mechanism is not clear. In this review, it is discussed that how Actinomyces species adhere to vaginal epithelial cells, neutrophil leukocytes, erythrocytes, other microorganisms or each other in the light of literature. The factors leading to actinomycotic lesions are also discussed.*

Key Words: *Actinomyces, virulence factors, adherence, pili, neuraminidases.*

Giriş

Actinomyces türlerinin insan genital sisteminde neden olduğu infeksiyona pelvik aktinomikoz denilmektedir. Bununla birlikte, bu sistemin mukozal yüzeylerinin normal flora elemanı olan *Actinomyces*'in nasıl infeksiyon oluşturduğu tam olarak aydınlatılmamıştır (1). Bazı yazarlar, *Actinomyces* türlerini konağa zarar vermedikleri için gerçek parazit olarak kabul etmemişlerdir. Buna karşın bazı yazarlar da, iltihabi doku cevabı ile infeksiyona neden oldukları için bu organizmaları parazit olarak tanımlamışlardır. Konak hücreleri tarafından fagosite edilebilmelerine rağmen hayatta kaldıklarından, *Actinomyces* türlerini fakültatif intraselüler parazit olarak karakterize eden yazarlara da rastlanmıştır (2). Ayrıca, literatürde aktinomikoz fırsatçı bir infeksiyon olarak tanımlanmasına rağmen (3), AIDS'li hastalar arasında yaygın olmadığı için aktinomikozun fırsatçı bir infeksiyon olmadığını bildiren makaleler de bulunmuştur (2).

Aktinomikotik İnfeksiyonlara Zemin Hazırlayan Konak Faktörleri

Dokuda Meydana Gelebilecek Bir Hasar

Actinomyces türleri, normal koşullarda hasar görmemiş mukozal bariyerleri geçemezler. Fakat, yabancı cisim, neoplazi ve diabetes mellitus gibi herhangi bir nedenle doku tahribatı olursa fırsatçı infeksiyonlar gelişebilir (2-8). Bu tetikleyici faktörler nedeniyle mukozal yüzeyleri geçebilen *Actinomyces*, vaginal salgı ve menstrüel kanama ile dışarı atılmamak

için hem epitel hücrelerine tutunmak hem de çoğalmak zorundadır. Ancak tutunabilen ve çoğalabilen *Actinomyces*'ler dokuya yerleşir ve böylece infeksiyon doku yüzeyine kolaylıkla yayılabilir (9).

Oksidasyon-Redüksiyon Potansiyelinde Azalma

Normal şartlarda zarar görmemiş dokularda redoks potansiyeli, *Actinomyces* gibi anaerob bakterilerin üremesini önlemek için yüksektir. Bununla birlikte, rahim içi araç gibi yabancı bir cisim varlığında doku yüzeyinde meydana gelen zedelenme nedeniyle doku redoks potansiyeli düşer ve bölgesel korunma mekanizması zayıflar. Buna bağlı olarak *Actinomyces* türleri çoğalma ve dokuyu istila etme fırsatı bulabilirler (10).

Aktinomikotik İnfeksiyonlara Zemin Hazırlayan *Actinomyces* Türlerine Ait Faktörler

Actinomyces türlerinin virülans faktörleri tam olarak anlaşılammış olmasına rağmen, yüzeylerinde taşıdıkları piluslar (yüzey fibrilleri) ve salgıladıkları nöraminidaz enzimlerinin patojenitede en önemli virülans faktörleri olduğu bilinmektedir.

Piluslar

Actinomyces türlerinin konak epitel hücrelerine tutunmasında hücre duvarlarında bulunan pilusların (hücre yüzey fibrilleri) önemli rol oynadığı saptanmıştır. Sadece Gram-negatif bakterilerde olduğu düşünülen bu yapılar son yıllarda yapılan çalışmalarda bazı *Actinomyces* türlerinin yüzeyinde de saptanmıştır. Yapılan elektron ve floresan mikroskopi çalışmalarında *Actinomyces viscosus* ve *Actinomyces naeslundii* türlerinin hücre yüzeylerinde pilusların bulunduğu

(1) Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Beytepe-Ankara

(2) Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Sıhhiye-Ankara

gösterilmiştir. Figdor ve arkadaşları (11) yaptıkları elektron mikroskopi çalışmasında benzer yüzey fibrillerini *Actinomyces israelii* türünde de tespit etmişlerdir. Ayrıca, *A. naeslundii* ve *Actinomyces viscosus* türlerinin yüzeyinde bulunan piluslar tutunma özelliklerine ve moleküler yapılarına göre Tip 1 piluslar ve Tip 2 piluslar olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Yapılan çalışmalarda, Tip 1 ve Tip 2 piluslar arasında aminoasid homolojisi olduğu fakat bu piluslarla diğer bakterilerin pilusları arasında böyle bir homolojinin olmadığı saptanmıştır (12). Tip 1 pilusların görevinin ağızda dış yüzeyine bağlanmayı, Tip 2 pilusların ise epitel hücrelerine, polimorfonükleer lökositlere (PMNL) ve diğer organizmalara tutunmayı sağladığı bildirilmiştir (11,13). Bu hücre yüzey fibrillerinin sentezinde ve fonksiyonunda *fim P* ve *fim A* gibi genlerin rol aldığı ve bu süreçte görev alan genlerin sayısının da her geçen gün arttığı rapor edilmiştir (14-17).

Nöraminidaz Enzimi

Actinomyces türlerinin yüzeyinde bulunan pilusları oluşturan adeziv proteinler, konak hücrelerinin yüzeyinde bulunan reseptörlere bağlanmaktadır. Bu bağlanmalarda rol oynayan diğer önemli virülans faktörü de *Actinomyces* tarafından üretilen nöraminidaz (siyalidaz) enzimidir (12,18). Nöraminidazlar konak hücre zarlarından siyalik asidi uzaklaştırarak hücre zar yapısını ve yüzey yükünü değiştirmekte, böylece *Actinomyces* ile konak hücreleri arasındaki enerji bariyeri ortadan kalktığı için geri-dönüşümsüz bağlanmalar gerçekleşebilmektedir. Siyalik asidin uzaklaştırılmasının diğer bir önemi de hücre yüzey reseptörlerinin açığa çıkmasıdır. Siyalik asidin, konak hücre yüzeyinde bulunan glikokonjugatlardan uzaklaştırılmasıyla galaktozil bölgeleri açığa çıkmaktadır ki bu bölgeler *Actinomyces* yüzey fibrillerinin bağlanabileceği bölgelerdir. Bu bölgelere örnek olarak β 1-3-bağlı galaktoz veya galaktozamin yapıları verilebilir (18). Ayrıca, nöraminidazların mukus viskozitesini azaltabileceği ve böylece alt dokularda bakteriyel kolonizasyon şansını da artırdığı düşünülmektedir (12).

Son yıllarda *Actinomycetaceae* ailesinde yer alan anaerob bakterilerle yapılan çalışmalarda bu organizmaların taşıdıkları yüzey fibrilleri (piluslar) ile konak epitel hücrelerine, PMNL'lere, diğer mikroorganizmalara ve nötrofil lökositlerin fagositik etkilerinden korunmak için de birbirlerine tutunabildikleri bildirilmiştir (11,12). Bu tutunmanın ilk aşamasının van der Waals ve elektrostatik kuvvetlerle gerçekleştiği rapor edilmiştir. Ayrıca, bu bağlanmaların *Actinomyces*-konak hücre yüzeylerinin fizikokimyasal özellikleri nedeniyle özgül olmadığı ve geri dönüşümlü olduğu saptanmıştır. *Actinomyces* türleri negatif yüklü olduğu için organik veya inorganik yüzeylere yaklaştıklarında itici elektrostatik güç gösterdikleri tespit edilmiştir. Bu enerji bariyeri aşıldıktan sonra daha güçlü ve geri dönüşümsüz bağlanmaların gerçekleştiği görülmüştür (13).

***Actinomyces*'in epitel hücrelerine tutunması:** *Actinomyces* türlerinin patogeneğinde konak epitel hücrelerine tutunmanın ilk ve önemli basamak olduğu bilinmektedir (19,20). Yapılan bir çalışmada, *A. naeslundii* türünün piluslar aracılığı ile epitel hücrelerine tutunduğu ve hatta bu tutunmanın nöraminidaz ile önemli derecede arttığı görülmüştür (12,18). Benzer şekilde, insan yanak epitel hücreleri nörami-

nidaz ile muamele edildiğinde, *A. israelii*'nin bu hücrelere tutunmasının arttığı saptanmıştır. Brennan ve arkadaşları (18) ise insan epitel hücreleri ile yaptıkları çalışmada, *A. naeslundii*'nin fimbriyal adezinlerinin epitel hücre yüzeyindeki reseptörünü "siyaloglikoprotein" olarak tanımlamışlardır. Yapılan bu çalışmada konak hücreleri ile bakteriler arasındaki etkileşimin laktöz, metil-beta-D-galaktozid ve N-asetil-D-galaktozamin tarafından engellendiği, fakat metil-alfa-D-galaktozid, sellobiyoz, N-asetil-D-glukozamin, L-fukoz veya D-mannoz ile inhibe edilemediği tespit edilmiştir.

***Actinomyces*'in PMNL'lere ve birbirlerine tutunması:**

Actinomyces adezin proteinlerinin tanıdığı konak hücre reseptörlerinin, sadece epitel hücrelerinin yüzeylerinde olmadığı aynı zamanda PMNL gibi diğer hücre tiplerinin de üzerinde bulunabileceği bildirilmiş (21) ve birçok yayında *Actinomyces* türlerinin PMNL'lere tutunabildikleri belirtilmiştir (19-23). Bu tutunmanın, *Actinomyces* türlerinin tip 2 fibrillerinin reaktif adezinleri ile PMNL'ler üzerindeki reseptörler arasında gerçekleştiği bildirilmiştir (24). *A. naeslundii* ile yapılan bir çalışmada *Actinomyces* yüzeyindeki reaktif adezinlerin galaktoz/N-asetil galaktozamin (Gal/GalNAc) ve PMNL'ler üzerindeki reseptör proteinin de "lökositin" olduğu tespit edilmiştir (21). Bu tutunma sonucunda, PMNL'lerin aktive olarak fagositozu ve bakteri ölümünü başlattıkları rapor edilmiştir (21,23,25). *Actinomyces* tarafından salgılanan nöraminidaz enziminin PMNL-*Actinomyces* bağlanması için de gerekli olduğu saptanmıştır (21, 26). Bu enzimin fagositik hücreler üzerindeki reseptörleri açığa çıkararak etki gösterdiği tahmin edilmektedir. *Actinomyces* piluslarının PMNL'ler üzerindeki komplementer reseptörlerini tanımamasının, sadece bakterilerin ölümü ile sonuçlanmadığı aynı zamanda konak dokuları için zararlı reaktif oksijen aracı moleküllerinin ve bazı enzimlerin salınmasına da neden olduğu bildirilmiştir (26). Yapılan çalışmalarda, *Actinomyces*'lerin in vitro süspansiyonlarının PMNL'ler tarafından kolaylıkla fagosite edilebildiği ve etkili bir şekilde öldürüldüğü saptanmış olsa da, bu organizmaların birbirlerine tutunması sonucu oluşturdukları büyük kümeler sayesinde konak fagositik hücrelerinden kaçabildikleri gösterilmiştir. Figdor ve arkadaşları (11) yaptıkları çalışmada *A. israelii* türünü kobayların doku boşluklarına injekte etmiş, ışık ve elektron mikroskobunda tipik aktinomikotik kolonilerin oluşumunu gözlemişlerdir. Bu çalışma ile *A. israelii*'nin ekstraselüler matriksi ağ gibi saran karakteristik yapışkan koloniler oluşturduğu ve böylece konak savunma sisteminden kaçabildiği sonucuna varmışlardır.

***Actinomyces*'in eritrositlere tutunması:** *Actinomyces* türlerinin eritrositlere tutunduğuna ve hemaglutinasyona yol açtığına dair çeşitli yayınlar bulunmasına rağmen, neden eritrositlere tutunduğunu bildiren bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Bununla birlikte, eritrositlerin *Actinomyces* tarafından demir kaynağı olarak kullanıldığı düşünülmektedir. İnsan vücudunda, anaerob bakterilerin kullanabileceği serbest demir kısıtlı miktarlarda bulunmaktadır. Demir büyük oranda ya ferritin, hem ve hemoglobinin yapısında ya da transferrin gibi moleküllere bağlı olarak bulunmaktadır. Dolayısıyla bakteriler serbest olmayan demiri kullanabilmek için çeşitli mekanizmalar geliştirmişlerdir. Bunlardan biri de sideroforlardır. Sideroforlar, demiri taşıyıcı proteinlerden

ayırtıp demirin bakteri içine alınabilmesi için yüzey reseptörleri ile bağlanır (27). Bu sideroforların varlığı *A. naeslundii*'de gösterilmiştir (28). *Actinomyces* türleri tarafından kullanılan diğer bir mekanizma ise heme veya hemoglobine bağlanmaktadır. Bu bağlanmada, nöraminidaz enzimi eritrositlerin zarında bulunan ve fibriller adezinlerin reseptörü olan glikolipid ve glikoproteinlerin açığa çıkmasını sağlayarak önemli bir rol oynamaktadır (12).

Actinomyces'in diğer mikroorganizmalara tutunması: *Actinomyces* türlerinin epitel hücrelerine, PMNL'lere ve birbirlerine tutunabildikleri gibi diğer bazı organizmalara da tutundukları gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda *Actinomyces* türlerinin galaktoza özgü yüzey pilusları aracılığı ile bazı streptokoklara bağlanabildiği ve böylece mukozal yüzeyler üzerinde karışık koloniler oluşturabileceği saptanmıştır (29). Bu karışık kolonilerde bulunan ve "konkomitant" bakteriler olarak adlandırılan mikroorganizmalara örnek olarak, *Fusobacterium türleri*, *Eikenella corrodens*, siyah pigmentli *Bacteroides* türleri, *Haemophilus* türleri ve çeşitli Gram-negatif çomaklar verilebilir (30-32). Bu mikroorganizmaların *Actinomyces* türlerinin konak hücrede infeksiyon oluşturabilmesinde çeşitli rolleri olduğu bilinmektedir. Bunlardan biri, konağın savunma mekanizmalarını inhibe ederek ve doku redoks potansiyelini ve oksijen miktarını azaltarak *Actinomyces* türlerinin daha kolay bir şekilde üremelerini sağlamak, bir diğeri de kollajen eriten enzimleri (hyaluronidaz) salarak, *Actinomyces* türlerinin dokuları istila etmelerini kolaylaştırılmaktadır (2,7,30,33,34). Dolayısıyla, *Actinomyces* türleri ve diğer mikroorganizmalar arasındaki bu etkileşim sinerjik bir etkileşimdir (2). Bu sinerjik etkileşimde, farklı türlerin besin gereksinimleri ve metabolik son ürünlerinin aynı olmadığı ve hatta bir türün metabolik son ürününün diğer türün besin maddesi olabileceği düşünülmektedir (35).

Sonuç

Genital sistemin normal flora elemanı olan *Actinomyces* türleri, herhangi bir nedenle doku tahribatı oluştuğunda veya doku oksijen potansiyeli azaldığında kolaylıkla dokuyu istila ederek infeksiyon oluşturabilirler. Dokuya girdikten sonra hızla üremeye başlayan *Actinomyces*'ler, yüzeylerinde bulunan piluslar ve salgıladıkları nöraminidaz enzimi yardımıyla infeksiyonun doku yüzeyine yayılmasına neden olurlar. Erken tanı konamayan ve dolayısıyla erken tedavi edilemeyen vakalarda, infeksiyonun ilerlemesiyle doku fibrosisi ve abdominal bölgede apseler meydana gelmektedir. Tedavi edilmediği takdirde ise ölümcül olabilen bu infeksiyona neden olan *Actinomyces* türlerinin patojenik özelliklerinin bilinmesi büyük önem taşımaktadır.

Kaynaklar

1. Karaarslan A. *Actinomyces*. In: Ustaçelebi Ş, ed. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999: 457-61
2. Najjar TA, McKeon J, Smith L, Parson R: Septic arthritis of TMJ secondary to experimental osteosynthesis [Abstract]. *J Dent Res* 1980; 59A: 306
3. Beier KH, Rusnak RA. Unusual presentation of cervicothoracic actinomycosis complicated by pericardial effusion: a case report. *J Emerg Med* 1997; 15(3): 303-7
4. Williams CE, Lamb GHR, Lewis-Jones HG. Pelvic actinomycosis: beware the intrauterine contraceptive device. *Br J Radiol*

- 1990; 63(746): 134-7
5. Fiorino AS. Intrauterine contraceptive device-associated actinomycotic abscess and Actinomyces detection on cervical smear. *Obstet Gynecol* 1996; 87: 142-9
6. Petrone LR, Sivalingam JJ, Vaccaro AR. Actinomycosis-an unusual case of an uncommon disease. *J Am Board Fam Pract* 1999; 12(2): 158-61
7. Scribner DR, Baldwin J, Johnson GA. Actinomycosis mimicking a pelvic malignancy: a case report. *J Reprod Med* 2000; 45: 515-8
8. Feiter PW, Soeters PB. Gastrointestinal actinomycosis: an unusual presentation with obstructive uropathy. *Dis Colon Rectum* 2001; 44: 1521-5
9. Sandin RL, Greene JN, Sarzier JS, et al. Pelvic/abdominal actinomycosis associated with an intrauterine contraceptive device: a case of liver dissemination mimicking metastatic ovarian cancer. *Ann Clin Lab Sci* 1993; 23(6): 448-55
10. Briedigkeit H, Göbel U. Anaerobic bacteria as the cause of endogenous infections. *Z Arztl Fortbild Qualitatssich* 1997; 91(2): 165-70
11. Figdor D, Endo D, Davies J. Cell surface structures of Actinomyces israelii. *Aust Dent J* 1997; 42(2): 125-8
12. Yeung MK, Ragsdale PA. Synthesis and function of Actinomyces naeslundii T14V type 1 fimbriae require the expression of additional fimbria-associated genes. *Infect Immun* 1997; 65(7): 2629-39
13. Tang G, Yip HK, Samaranyake LP, Chan KY, Luo G, Fang HHP. Direct detection of cell surface interactive forces of sessile, fimbriated and non-fimbriated Actinomyces spp. using atomic force microscopy. *Arch Oral Biol* 2004; 49: 727-38
14. Cisar JO, Vatter AE. Surface fibrils (fimbriae) of Actinomyces viscosus T14V. *Infect Immun* 1979; 24(2): 523-31
15. Yeung MK. Molecular and genetic analyses of Actinomyces spp. *Crit Rev Oral Biol Med* 1999; 10(2): 120-38
16. Halleberg K, Holm C, Öhman U, Strömberg N. Actinomyces naeslundii displays variant fimP and fimA fimbrial subunit genes corresponding to different types of acidic proline-rich protein and β -linked galactosamine binding specificity. *Infect Immun* 1998; 66(9): 4403-10
17. Li T, Khah MK, Slavnic S, Johansson I, Stromberg N. Different type 1 fimbrial genes and tropisms of commensal and potentially pathogenic Actinomyces spp. with different salivary acidic proline-rich protein and statherin ligand specificities. *Infect Immun* 2001; 69(12): 7224-33
18. Brennan MJ, Cisar JO, Vatter AE, Sandberg AL. Lectin-dependent attachment of Actinomyces naeslundii to receptors on epithelial cells. *Infect Immun* 1984; 46(2): 459-64
19. Guzman CA, Plate M, Pruzzo C. Role of neuraminidase-dependent adherence in Bacteroides fragilis attachment to human epithelial cells. *FEMS Microbiol Lett* 1990; 71: 187-92
20. Jost BH, Songer JG, Billington SJ. Identification of a second Arcanobacterium pyogenes neuraminidase and involvement of neuraminidase activity in host cell adhesion. *Infect Immun* 2002; 70(3): 1106-12
21. Ruhl S, Cisar JO, Sandberg AL. Identification of polymorphonuclear leucocyte and HL-60 cell receptors for adhesins of Streptococcus gordonii and Actinomyces naeslundii. *Infect Immun* 2000; 68(11): 6346-54
22. Sandberg AL, Mudrick LL, Cisar JO, Metcalf JA, Malech HL. Stimulation of superoxide and lactoferrin release from polymorphonuclear leucocytes by the type 2 fimbrial lectin of Actinomyces viscosus T14V. *Infect Immun* 1988; 56(1):267-9
23. Sandberg AL, Ruhl S, Joralman RA, Brennan MJ, Sutphin MJ, Cisar JO. Putative glycoprotein and glycolipid polymorphonuclear leucocyte receptors for the Actinomyces naeslundii WVU45 fimbrial lectin. *Infect Immun* 1995; 63(7): 2625-31
24. Kurashima C, Sandberg AL, Cisar JO, Mudrick LL. Cooperative complement- and bacterial lectin-initiated bactericidal activi-

- tiy of polymorphonuclear leucocytes. *Infect Immun* 1991; 59(1): 216-21.
25. Mergenhagen SE, Sandberg AL, Chassy BM *et al.* Molecular basis of bacterial adhesion in the oral cavity. *Rev Infect Dis* 1987; 9(5): 467-74
 26. Sandberg AL, Mudrick LL, Cisar JO, Brennan MJ, Mergenhagen SE, Vatter AE. Type 2 fimbrial lectin-mediated phagocytosis of oral *Actinomyces* spp. by polymorphonuclear leucocytes. *Infect Immun* 1986; 54(2): 472-6
 27. Wandersman C, Deleplaire P. Bacterial iron sources: from siderophores to hemophores. *Annu Rev Microbiol* 2004; 58: 611-47
 28. Moelling C, Oberschlacke R, Ward P *et. al.* Metal-dependent repression of siderophore and biofilm formation in *Actinomyces naeslundii*. *FEMS Microbiol Lett* 2007; 275: 214-20
 29. Sharon N. Bacterial lectins, cell-cell recognition and infectious disease. *FEBS Lett* 1987; 217(2): 145-7
 30. Hillier S, Moncla, B. Anaerobic Gram-positive nonsporing bacilli and rods. *In: Balows A, ed. Manual of Clinical Microbiology*. Fifth ed. American Society for Microbiology: Baltimore, MD, 1991:1700-1
 31. Gorisek B, Rebersek-Gorisek H, Kavalar R, Krajnc I, Završnik S. Pelvic actinomycosis. *Wien Klin Wochenschr* 1999; 111(15): 603-7
 32. Chaudhry SI, Greenspan JS. Actinomycosis in HIV infection: a review of a rare complication. *Int J STD AIDS* 2000; 11: 349-55
 33. Gupta PK. Intrauterine contraceptive devices vaginal cytology, pathologic changes and clinical implications. *Acta Cytol* 1982; 26(5): 571-613
 34. Yegüez JF, Martinez SA, Sands LR, Hellinger MD. Pelvic actinomycosis presenting as malignant large bowel obstruction: a case report and a review of the literature. *Am Surg* 2000; 66(1): 85-90
 35. Larsen B. Vaginal flora in health and disease. *Clin Obstet Gynecol* 1993; 36(1): 107-21