

T.C

DUMLUPINAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**TEKRARLAYAN GEBELİK KAYIPLARINDA
ANTI-MÜLLERİAN HORMON VE
NEOPTERİNİN ROLÜ**

DR.HALİME ŞENCAN ALTINIRMAK

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI DOÇ. DR. NADİ KESKİN

KÜTAHYA-2016

İÇİNDEKİLER

| | |
|----------------------------|-----|
| TEŞEKKÜRLER..... | ii |
| KISALTMALAR..... | iii |
| TABLO LİSTESİ..... | v |
| ÖZET..... | vi |
| ABSTRACT | vii |
| GİRİŞ VE AMAÇ..... | 1 |
| GENEL BİLGİLER..... | 3 |
| MATERYAL VE METOD..... | 26 |
| BULGULAR..... | 29 |
| TARTIŞMA..... | 33 |
| SONUÇLAR VE ÖNERİLER | 39 |
| KAYNAKLAR..... | 41 |

TEŞEKKÜRLER

Asistanlık eğitimim boyunca sundukları bilimsel, destekleyici ve verimli ortam için başta anabilim dalı başkanımız aynı zamanda tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Nadi KESKİN'e, değerli hocalarım Yrd. Doç. Dr. Kadriye Beril YÜKSEL'e, Yrd. Doç. Dr. Ali SEVEN'e, Yrd. Doç. Dr. Suna KABİL KUCUR'a çok teşekkür ederim.

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum arkadaşlarım Dr. Murat POLAT ve DR. Nuh Mehmet ERBAKIRCI'ya; kliniğimiz hemşire, ebe ve çalışanlarına; tezimin laboratuvar çalışmalarında bana gösterdikleri destek ve sevecenlik için DPÜ Evliya Çelebi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Merkez Laboratuvarında görev yapan teknisyen dostlarıma; zorlu eğitim ve meslek yaşantımda bana gösterdikleri sevgi, destek ve anlayış ile her zaman yanımda olan canım annem Ayşe ŞENCAN'a, babam Mustafa Yaşar ŞENCAN'a, ablam Sevgi KARA'ya, sevgili eşim İhsan ALTINIRMAK'a ve tez yazım aşamasında daha doğmasada varlığı ile bana güç veren minik kızıma tüm kalbimle teşekkür ederim.

DR. Halime ŞENCAN ALTINIRMAK

KISALTMALAR

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

TGK: Tekrarlayan Gebelik Kaybı

FSH: Folikül Stimule edici Hormon

E₂ : Estradiol

AMH: Anti-Müllerian Hormon

NP: Neopterin

IFN- γ : İnterferon- gama

T lenfosit-1: Th-1

T lenfosit-2: Th-2

MRG: Manyetik Rezonans Görüntüleme

TH: T-helper Hücresi

IL: İnterlökin

TNF- β : Tümör Nekrozik Faktör Beta

LA: Lupus Antikoagulanı

AFAS: Antifosfolipit Antikor Sendromu

MTHFR: Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz

vWF: von Willebrand Faktör

PAI-1: Plasental Aktivatör İnhibitör-1

PAI-2: Plasental Aktivatör İnhibitör-2

APCR: Aktive Protein C Rezistansı

AT: Antitrombin

SLE: Sistemik Lupus Eritamatozus

DM: Diabetes Mellitus

HbA1C: Hemoglobin A1C

OKS: Oral Kontraseptif

IUGG: Intrauterin Gelişim Geriliği

AKA: Antikardiyolipin Antikoru

LA: Lupus Antikoru

PC: Protein C

PS: Protein S

FVL: Faktör V Leiden

GHT: Granüloza Hücreli Tümör

TMB: Tetrametilbenzidin



TABLÖLAR

TABLO-1: AMH ve Neopterin düzeylerinin hasta ve kontrol grupları arasındaki karşılaştırılması

TABLO-2: AMH ve Neopterin düzeylerinin abortus sayısı ile ilişkisi

TABLO-3: AMH ve Neopterin değerlerinin yaş aralıklarına göre değerlendirilmesi

TABLO-4: Hasta ve kontrol grupları arasındaki platelet/ lenfosit ve nötrofil/ lenfosit oranları

ÖZET

AMAÇ: Bu çalışmada tekrarlayan gebelik kayıplarında antimüllerian hormon ve neopterinin biyogösterge olarak kullanılıp kullanılmayacağını gösterilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM: Bu çalışmaya Nisan 2016 ve Ağustos 2016 tarihleri arasında Dumlupınar Üniversitesi Tıp Fakültesi Evliya Çelebi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum kliniğinde gerçekleştirildi. Çalışmamıza 12. Gebelik haftası öncesinde ardı ardına en az 2 abortusu olan 53 hasta ve hiç abortus ve gebelik komplikasyonu öyküsü olmayan en az 1 tane sağlıklı doğum yapmış 57 sağlıklı kişi olmak üzere toplam 110 kişi alınmıştır. Her hastadan periferik kanda anti-müllerian hormon ve neopterin incelenmiştir.

BULGULAR: AMH ve Neopterinin hasta ve kontrol grupları arasında karşılaştırılması yapılmıştır. Bu sonuçlara göre AMH'in hasta grubundaki ortalaması $1389,18 \pm 683,33$ pg/ml'dir ve kontrol grubunun $1845,85 \pm 718,33$ pg/ml olan ortalamasından düşük olup bu fark istatistiksel açıdan anlamlıdır ($t=-3,411$; $p=0,001$). Neopterinin iki grup arasında karşılaştırılmasında ise hasta grubunun ortalaması $1,69 \pm 0,486$ ng/ml ve kontrol grubunun ortalaması $1,38 \pm 0,431$ ng/ml'dir ve bu fark da istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($t=3,536$; $p=0,001$).

SONUÇ: Çalışmamızın sonucuna göre tekrarlayan gebelik kayıplarında antimüllerian hormon ve neopterin biyogösterge olarak kullanılabileceği saptanmıştır.

ABSTRACT

AIM: The aim of this study was to evaluate whether anti-Müllerian hormone and neopterin can be used as biomarkers in recurrent pregnancy loss.

MATERIALS AND METHODS: This study was carried out in Department of Obstetrics and Gynecology, Dumlupinar University Evliya Celebi Research and Education Hospital, between the dates of April 2016 and August 2016. A total of 110 patient were included in this study; 53 patients were with two or more consecutive miscarriages prior to 12th gestational week and women with at least one healthy term infant and had no previous history of miscarriage or pregnancy complications. Peripheral blood was collected from each patient to analyze anti-Müllerian hormone and neopterin concentration.

RESULTS: The results suggested that mean level of anti-Müllerian hormone is $1389,18 \pm 683,33$ pg/ml in patient group which is lower than control group ($1845,85 \pm 718,33$ pg/ml). This result is statistically significant with a t value of 3,411 and p value of 0,001. The mean levels of neopterinin are $1,69 \pm 0,486$ ng/ml and $1,38 \pm 0,431$ ng/m in patient group and in control group, respectively. This result considered to be statistically significant ($t=3,536$; $p=0,001$).

CONCLUSION: The data of study demonstrate that anti-Müllerian hormone and neopterin can be used as biomarkers of recurrent pregnancy loss.



I- GİRİŞ VE AMAÇ

Erken gebelik kayıpları kadınlarda reproduktif dönemin sık karşılaşılan jinekolojik problemlerinden biridir .1977 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 'nün yapmış olduğu tanıma göre, 20. Gebelik haftasından önce, 500 gramdan daha az embriyo veya fetüs ve eklerinin, tamamının ya da bir kısmının uterus kavitesi dışına atılması olayına abortus olarak tanımlanmıştır (1).

Tekrarlayan gebelik kaybına (TGK) neden olduğu düşünülen bir çok etyolojik faktör tanımlanmıştır. Bunlar yapısal veya sayısal kromozom anomaliler, genetik nedenler, luteal faz yetmezliği, polikistik over sendromu, endokrin nedenler, uterus yapısal bozuklukları, servikal yetmezlik, immunolojik nedenler, trombofilik bozukluklar, sigara kullanımı, çevresel faktörler ve ovaryan rezerv düşüklüğü olarak sıralanabilir (2, 3). TGK olguları üzerinde yapılan detaylı araştırmaların sonuçlarına göre olguların %50'sinden fazlasında belirli bir etyolojik faktör saptanamamıştır (4, 5).

Açıklanamayan TGK yaşayan olgular muhtemelen heterojen bir grubu temsil etmekte olup etyolojiye birkaç katkıda bulunmaktadır. Bu nedenler arasında oosit faktörler, endometriyal faktörler ve muhtemelen sperm faktörler olduğu düşünülmektedir (6, 7, 8). İyi bilindiği gibi fetal anöploidi ilk trimester spontan düşüklerin bir nedeni olmakta ancak kötü over rezervi olan kadınlarda daha sık görüldüğü bilinmektedir (9). Kadınların over rezervlerindeki azalmalar farklı oranlarda meydana gelmekte bu nedenle kadınlar farklı yaşlarda menapoza girmektedir (10). Pelvik cerrahi, kemoterapi radyoterapi doğrudan overleri etkileyerek kötü over rezervinin sebebi olabilmektedir. Bu nedenle, genç kadınlarda bile over rezervi azalmış olabilir. Azalmış over rezervi sadece yaşlı kadınlarla sınırlı olmadığı için genç kadınlarda da birinci trimester spontan abortuslara neden olabileceği hipotezi savunulmuş bu amaçla nedeni belli olmayan TGK yaşayan olgularda yapılmış bir çalışmada menstrüel siklusun üçüncü günü bakılan folikül stimüle edici hormon (FSH) ve estradiol (E₂) değerleri daha yüksek bulunmuştur. Menstrüel siklusun üçüncü günü bakılan FSH ve E₂ değerleri arttıkça oosit kalitesi ve sayısı azalacak dolayısıyla bu kötü oositlerden oluşak embriolarda da kromozom anomali ve abortus olma ihtimali artacaktır (11). Sağlıklı kadınlarda yaşa bağımlı over rezervinin gösterebilmek için birçok biyokimyasal belirteç bulunmaktadır fakat

en iyi belirteç ise anti-müllerien hormondur (AMH) (12). Bizde bu nedenle over rezervinin göstergesi olarak AMH'ı seçtik.

Neopterin (NP), hücrel immun sistemin aktivasyonu sonucu oluşan son dönemlerde en popüler biyokimyasal belirteçlerden biridir (13, 14). İnterferon-gama (IFN- γ) uyarısıyla aktive olmuş insan monosit ve makrofajlarından NP üretimi ve salınımı görülmüştür (15, 16, 17). Bu nedenle etyopatolojisinde T lenfositlerin ve makrofajların yer aldığı birçok hastalıkta tanı için ışık tutacağı düşünülen bir biyomarkerdir (18). NP'nin hücrel immunité ile bağlantısı bir çok çalışmada gösterilmiş olup, günümüzde monosit ve makrofaj aktivasyonunun görüldüğü enfeksiyöz ya da enflamatuar hastalıkların tanısında, şiddetinde ya da hastalığın progresyonunu öngörmeye kullanılabilmektedir (13, 17, 19).

Normal seyreden bir gebelikte T lenfosit-2 (Th-2) metabolitleri artmaktadır. T lenfosit-1 (Th-1) metabolitlerindeki artış ise gebelikte preeklampsi, spontan abortus, missed abortus, rekürren abortus gibi kötü prognostik sonuçlar oluşturabilmektedir (20 - 24).

Tekrarlayan gebelik kaybı öyküsü olan çiftler hekim tarafından empati yapılarak özenle değerlendirilmelidir. Erken gebelik aile için duygusal ve travmatik bir tecrübedir. Aile açısından üzüntü ve korku verici bir durum olmasının yanında üreme tıbbı ile ilgilenen hekimler açısından da etyolojisinin bilinmemesi ve tanı-tedavi yaklaşımlarının sınırlı olması nedenleriyle önemli bir konudur. TGK'nın birçok nedeni tespit edilmesine rağmen olguların çoğunda etyolojik bir faktör gösterilememiştir. Bizde TGK'da etyolojiye ışık tutmak amacıyla ve tekrarlayan gebelik kayıplarında AMH ve NP' nin güncel literatür bilgilerinin ışığında biyogösterge olarak kullanılabileceğini düşündük ve bu yönde bir çalışma planlandık.

II- GENEL BİLGİLER

1977 yılında WHO'nun yapmış olduğu tanıma göre, 20. Gebelik haftasından önce, 500 gramdan daha az embriyo veya fetüs ve eklerinin, tamamının ya da bir kısmının uterus kavitesi dışına atılması olayına abortus denilmektedir (1). Abortus gebeliğin en sık görülen komplikasyonudur (25) . Spontan abortusların çoğu embriyonun ölümünden 1-4 hafta sonra gerçekleşir. Öncelikle desidua bazaliste kanama oluşur. İmplantasyon yerinde inflamasyon ve nekroz oluştuğundan sonra implantasyon yerinden ayrılan embriyo uterus içinde yabancı cisim olarak algılanır. Uterin kontraksiyonları uyarır ve serviks açılır, sonunda gebelik ürünü uterin kaviteden dışarı atılır (1, 25).

Subklinik abortus, klinik olarak tespit edilmeyen, ancak biyokimyasal olarak gebeliğin tespit edildiği menstrüel kanama ile oluşan abortuslara denir (1). Eğer kesenin içinde embriyo yoksa bu anembriyonik gebelik olarak adlandırılır. 12. gebelik haftasına kadar olan abortuslar erken abortus, 12–20. gebelik haftaları arasında olan abortuslar ise geç abortus olarak tanımlanmıştır (1, 25) .

Abortuslar inkomplet ve komplet abortuslar olmak üzere tamamlanma şekillerine göre iki grupta incelenebilir. İnkomplet abortus, embriyo-fetus ve eklerinin bir kısmının uterus kavitesi dışına atılması olup, komplet abortus embriyo-fetus ve eklerinin tamamının uterin kavite dışına atılmasıdır. Abortuslar klinik seyrine göre dört grupta incelenebilir. Abortus imminens, düşük tehditidir. Yirminci gebelik haftasından önce uterin kaynaklı vajinal kanama olması ancak serviksin kapalı olması durumudur. Abortus insipiens, kaçınılmaz (durdurulamayan) düşüktür. Yirminci gebelik haftasından önce kasıklarda kramp tarzında ağrı, bol miktarda vajinal kanama ve servikste açıklık ve silinme vardır. Missed abortus, 20.gebelik haftasından önce fetüs ölmüş, haftalar hatta aylar geçmesine rağmen ölü dokunun uterin kaviteden atılmadığı durumdur. Septik abortus, enfekte bir abortus sonucu enfeksiyonun maternal dolaşıma yayılmasına denir (1, 25, 26).

Spontan abortusun insidansı % 15–40 arasındadır. Bunların % 62'si ise 12. haftadan önce görülmektedir(1) .

Abortuslar provake ve spontan abortuslar olmak üzere 2 başlıkta incelenilebilir:

A- Spontan Abortuslar

Provoke abortusların dışında kalan bütün abortuslar spontan abortuslar olarak adlandırılır. Sporadik ve habitüel abortuslar olmak üzere iki başlık altında incelenebilir.

1- Sporadik Abortuslar:

Sporadik abortuslarda altta yatan kronik bir patoloji yoktur. Spontan abortusların % 97–99 ile büyük çoğunluğunu oluştururlar (1). Popülasyonda abortus oranı %10-15'dir. İleri yaş gebeliklerinde bu oran %20'ye ulaşmaktadır. Ülkemizde yılda tahminen 1 milyonun üzerinde spontan abortus olmaktadır. Ancak gerçekleşen abortus yüzdelerini tam olarak söyleyebilmek kimyasal gebeliklerin tespit edilememesinden dolayı mümkün olamamaktadır (1, 26).

Türün devamlılığı bakımından ilk bakışta başarısızlık gibi görünen abortuslar, türün sağlığının korunması bakımından değerlendirildiğinde yüksek bir başarıyı göstermektedir. Birçok türde kromozom yönünden anormal bir sperm veya ovum varlığında fertilizasyon gerçekleşmezken, insanlarda bu ayıklama basamağı son derece yetersizdir. Çünkü kromozomal olarak anormal olsalar bile ovum ile sperm yinede fertilize olabilmektedir. Fertilizasyondan sonra ise ayıklama süreci daha etkin bir hale gelerek, insanlarda spontan gebelik kayıplarının temelini oluşturmaktadır. Bu kayıpların çoğu daha gebelik tespit edilmeden gerçekleşir (27). Bu nedenle spontan gebelik kaybı yaşayan kadınlara, bunun insan türüne özgü aslında sonuçları bakımından çok hayırlı olan doğal bir ayıklanma şekli olduğunu önemle vurgulamak gerekir.

Abortusların büyük çoğunluğu embriyo öldükten yaklaşık 1 ila 4 hafta içinde gerçekleşir. Desidua bazalise kanama olduktan sonra implantasyon yerinde nekroz ve inflamasyon meydana gelir. Böylece ovum implantasyon yerinden kısmen ya da tamamen ayrılır. Yerinden ayrılan ovum, uterus içinde yabancı cisim olarak algılanıp uterin kontraksiyonları başlatır. Bunu serviksin açılması ve gebelik ürününün dışarı atılması izler (1, 25, 26). Tüm abortuslarda plasental villuslarda hidropik

dejenerasyon bulunmaktadır. Bazen amnion sıvısı absorbe olur, içinde fetus kurur ve bası altında kalarak parşömene benzer. Buna fetus papiraceus denir(1).

a) Etyoloji

Fetal, maternal ve paternal faktörler olarak 3 başlıkta incelenebilir.

(1) Fetal Faktörler:

Abortusların büyük çoğunluğu ilk trimesterde görülmektedir. İlk 6-8 haftalar arasında görülen spontan abortusların %50-80'inde fetüse ait genetik bir anormallik ya da malformasyon görülürken, 8–12. haftalar arasında görülen spontan abortuslarda bu oran %25'dir. Ortalama olarak ilk trimesterde meydana gelen abortlarda kromozom anomalisi ve ona bağlı malformasyon oranı %50'dir (25, 26) .

Malformasyonların sebebi net olarak bildirilmesede trofoblastın implantasyonu sırasında ortaya çıkan bir bozukluk olduğu iddia edilmektedir (1).

Trizomiye yol açan temel mekanizma mayoz sırasında kromozom çiftlerinin ayrılmasındadır (nondisjunction). Ayrıca ebeveynlerin herhangi birindeki dengeli translokasyon veya dengeli kromozomal inversiyon da otozomal trizomiye yol açabilir. Ancak kromozom bozukluklarının nasıl abortusa yol açtığı henüz netleştirilememiştir. Embriyo, trofoblast ve desiduada hızla artan hücre kitlesinin nükleik asidinin yapımında gerekli olan maddelerin eksikliğine yol açtığı ileri sürülmüştür, (folik asit eksikliği, protein eksikliği, vitamin B–12 vb) (28) . İzole bir gen mutasyonu ya da birden fazla genin beraberce bozuk olması kromozom yapısını değiştirmeden genetik bozukluğuna yol açıp daha ileri haftalarda abortusa neden olabilir (29) .

Maternal kardiyak, pulmoner, renal hastalıklar, hipertansiyon, maternal anemi, dekolman plsentta, plsentta sirkumvalla, plasenta previa, molar gebelikler, umbilikal kordtaki düğümler ve plasentanın infeksiyonları plasentanın dolaşımını bozarak fetal anoksiye yol açarak ani fetal kayıpların sebebi olabilir (25).

(2) Maternal Faktörler:

Düşüklere sebep olduğu düşünülen başlıca mikroorganizmalar Listeria, vibrio, klamidya, mikoplazma, salmonella, vaccinia ve TORCH grubu (Toksoplazma,

Rubella, Sitomegalovirüs, Herpes tip 2, Sifiliz) enfeksiyözlerdir (26,30). Intra uterin kaviteyi bozan konjenital müllerien anomaliler, myomlar, retrovert uterus, geçirilmiş operasyonlar sonucu uterus duvarında meydana gelen skar dokusu, uterin sineşiler, özellikle ikinci trimester kayıpları açısından anatomik veya servikal yetmezlik gibi faktörler abortusların sebebi olabilir (31). Tiroid hastalıkları, diabet, hipertansiyon, SLE gibi bağ dokusu hastalıkları abortusa neden olabilir. Protein ve vitamin eksikliklerine yol açan beslenme bozuklukları da başlıca abortus sebepleri arasında yer almaktadır (25, 26, 32). Maternal hipoksi, teratojenik ilaçlar, folik asit antagonistleri, antikoagülanlar, kurşun gibi zehirli metaller, özellikle sigara, alkol ve kokain kullanımı, anestezi gazları, belli dozda alınan radyasyon, antineoplastik ilaçlar ve lüteolitik ajanlar (östrojen vb.) abortus sebebi olabilir (25). Özellikle ikinci trimesterde meydana gelen gebe uterusu penetran ve künt travmalar, elektrik şokları abortus nedeni olabilir (25).

(3) Paternal Faktörler:

Abortusun babaya ait sebeplerini araştıran çalışmalar halen yetersiz olmakla birlikte babanın oligospermisi veya hiperspermisi, sperm DNA içeriğinin ileri derecede azalması ileri paternal yaş abortuslara neden olabileceği düşünülmektedir (33, 34) .

B- Habitüel Abortuslar

Habitüel abortus, yirminci gebelik haftası öncesi veya 500 gramın altında arka arkaya iki veya daha fazla gebelik kaybı olarak tanımlanır. Bu durum çocuk sahibi olmak isteyen çiftlerin %1-2' sini etkiler (35). Oniki haftanın altındaki gebelik kayıpları erken düşük, oniki haftadan sonra olan gebelik kayıpları ise geç düşük olarak adlandırılır. Gebe kalmak isteyen kadınların %15'inde klinik olarak tanımlanan gebelik, abortus ile sonuçlanır. Bu kadınların %1-3'ünde klinik olarak habitüel abortus görülür (36).

a) Etyoloji:

Tekrarlayan gebelik kaybı her yıl 500.000'den fazla kadını etkileyen yaygın obstetrik bir sorundur. Daha öncede belirtildiği gibi spontan abortus riski % 15–40 arasında olup, birbirini takip eden iki abortus riski % 2–3, üst üste üç abortus riski ise % 1'den daha azdır. Anne ve babanın yaşı, kadının önceki gebeliğinde yaşanan

spontan abortus, ölü doğum ve konjenital malformasyonlu fetus hikayesi insidansı etkiler (1, 25).

TGK'ya neden olan muhtemel etyolojik faktörler arasında; genetik, anatomik ve endokrin nedenler, enfeksiyonlar, immunolojik ve çevresel faktörler, trombofilik bozukluklar ve ovaryan rezerv düşüklüğü sayılabilir (2, 37).

Ancak bu olguların seri araştırmaları sonrasında %40'ında etyolojik bir faktör tespit edilememiştir (38). Her ne sebeple olursa olsun, TGK olan olguların %70-75'inde sadece destek tedavisi ile bir sonraki gebelikte başarılı gebelik sonucu elde edilebilmektedir (39, 40).

1- Genetik Nedenler:

Kromozom anomalileri tekrarlayan gebelik kayıplarının yalnızca %2-5'inden sorumlu olmasına rağmen, her iki ebeveynin de karyotiplerinin araştırılması bu hasta grubunun değerlendirilmesinde önemli bir aşamadır.

İlk trimester gebelik kayıplarının %50'sinde, ikinci trimester kayıplarının %30'unda ve ölü doğumların %3'ünde kromozomal anomali bulunmaktadır (41, 42).

İlk trimester tekrarlayan gebelik kaybı olanlarda abort materyalinde kromozom anomalisi insidansı yaklaşık %50-60 civarındadır (43). Tekrarlayan aneuploidinin bir tekrarlayan abort nedeni olduğunu düşünülmektedir (44).

Spontan düşüklerde tespit edilen kromozomal anomalilerinin büyük bir çoğunluğu (%90) anoplidi, poliploidi gibi sayısal anomalilerdir. Geri kalanlar ise translokasyon ve inversiyon gibi yapısal anomaliler ve mosaizmdir.

Tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan olguların büyük bir kısmında spontan abortuslardan farklı olarak yapısal anomaliler görülür. Bunlar içinde en sık görüleni dengeli translokasyonlardır. Dengeli translokasyonlar tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan çiftlerin %2-5'inde çiftlerin birinde tespit edilmiş olup bu oran normal popülasyonda %0.2'dir. Daha yüksek oranla maternal kaynaklıdır. Translokasyonların 2/3' ü resiprokal translokasyonlardır. Translokasyonların 1/3'ü

robertsonian tipidir. Kromozomal inversiyonlar translokasyonlardan daha nadir gelişir (45).

Gen mutasyonlarının da tekrarlayan gebelik kaybına neden oldukları görülmüştür. Tekrarlayan gebelik kaybına neden olduğu ispatlanan tek gen bozukluklarına en iyi örnek yüksek geçişli otozomal dominant bir hastalık olan myotonik distrofidir (46). Tanatoforik displazi ve tip 2 osteogenezis imperfecta fetusu etkileyen ve abortuslara neden olan diğer otozomal dominant bozukluklardır.

1- Anatomik Nedenler:

Uterus anomalileri tekrarlayan düşük sebebiyle araştırılan olguların yaklaşık %15'inde görülmektedir (31). Bu bozukluklar konjenital ya da edinsel olabilir. Konjenital uterin anomalilerin genel popülasyonda insidansı yaklaşık %1 iken tekrarlayan gebelik kaybı olan olgularda bu oran %3'dür (47, 48, 49).

Gebelik kaybı riskini arttıran başlıca anatomik uterin anomaliler; müllerian gelişim anomalileri, uterin leiomyomlar, intrauterin adezyonlar, dietilstilbestrolkullanıma bağlı uterin anomaliler, servikal yetmezlik ve endometrial polipler olarak sıralanabilir.

Genel popülasyonda müllerian anomali insidansı yaklaşık %5 civarındadır (50). Oluşan patofizyolojik anormallikler sonucu tekrarlayan gebelik kayıpları, preterm doğum ve malprezentasyon ve bunların sonucunda sezeryan ile doğum oranında artış görülür (51, 52). Bu olgularda olası uterus anomalisi erken düşüklere kıyasla daha çok geç düşüklere neden olmaktadır (53).

En sık rastlanan uterin anomaliler septat uterus, bikornuat uterus ve uterus didelfistir. En nadir rastlanılan anomali ise unikornuat uterusur. Septate uterus varlığında, spontan abortus oranı yaklaşık olarak %65 olarak bildirilmiştir (51). Unikornuat uterusu reproduktif prognoz tipe göre değişsede genel olarak %51 spontan abortus işle sonuçlanmaktadır. İnfertil yada tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan vakalar incelendiğinde bunların %25'ince bikornuat uterus ile karşılaşılmış olup bu olguların yaklaşık %36'sının abortus hikayesi bulunmaktadır (52). Uterus didelfis diğer anomali tiplerine göre reproduktif prognoz daha iyi olup abortus oranı

%32 olarak bildirilmiştir(52). Arkuat uterusu bulunan vakalarda ise erken gebelik kaybı oranı %13 olarak bildirilmiştir (48). Uterin myomların tekrarlayan gebelik kaybı nedeni olduğunu gösteren kanıtlar net değildir. Tekrarlayan gebelik kayıplarındaki mekanizmaların tümünde olduğu gibi myomlarda da bölgesel kan akımındaki yetersizliğine bağlanmıştır. Genel olarak submüköz myomlar tek ve küçük boyutta ise histeroskopik myomektominin düşük oranını azalttığı bildirilmiştir (53). Tekrarlayan gebelik kayıplarında intrauterin adezyonların patofizyolojisi, fonksiyonel uterin hacmin azalması ve endometrial fibrozis ile plasental yetersizliğe neden olabilecek inflamasyondur (54). Bu hastalardaki gebelik sonuçları %40-80 spontan gebelik kayıplarıyla sonuçlanmaktadır (55).

Servikal yetmezlik, serviksin fonksiyonel veya yapısal anomalisine bağlı olarak gebeliği terme kadar taşıyamaması demektir. Servikal yetmezlik tanısı konan gebelerde 12-14 gebelik haftaları arasında proflaktik serklaj uygulaması tavsiye edilen tedavi metodudur ancak etkinliği tartışmalıdır (56).

3- Endokrin Nedenler:

İmplantasyon sonrası gebeliğin sağlıklı bir şekilde devam edebilmesi için birçok endokrinolojik faktör rol oynamaktadır. Gebelerde çıkabilecek çeşitli endokrinolojik hastalıklar tekrarlayan gebelik kayıplarının da sebebi olabilmektedir. Tüm gebelik kayıplarının %8-12'sinde endokrinolojik faktörlerin rolü olduğu düşünülmektedir (57).

Tiroid hastalıkları, diyabet, polikistik over sendromu(PCOS) ve luteal faz defekti tekrarlayan gebelik kayıplarına neden olabileceği düşünülen başlıca endokrinolojik faktörlerdir.

Hipertiroidizmin genel olarak infertilite ve TKG ile ilişkili olabileceği düşünülmemektedir (57). Ancak tedavi edilmemiş gizli ya da subklinik hipotiroidizmde gebelik kayıp olasılığı artmaktadır. Gebelik kayıp oranları, normal tiroid fonksiyonları olan tedavi edilmiş hipotiroidili gebelerde çok düşük iken, tedavi edilmemiş ya da yetersiz tiroid hormon replasmanı yapılan hastalarda belirgin şekilde yüksektir (58).

Diabetes mellitusu (DM) olan kadınlar doğru glisemik kontrol sağlandığı sürece düşük oranlarının artmadığı genel olarak kabul edilen bir görüştür. Fakat diabeti olan ve ilk trimesterde yüksek kan glukoz seviyesi ile yüksek hemoglobin A1C (HbA1C) düzeyleri olan olgularda fetal kayıp ve fetal anomali oranları belirgin olarak arttığı görülmüştür. Yetersiz glisemik kontrolü olan insülin bağımlı diabetik gebelerde normal gebelere göre spontan abortus oranları 2 ya da 3 kat artmıştır (59, 60).

Polikistik over sendromunun tekrarlayan gebelik kayıplarına sebep olabileceği görülmüştür. Öne sürülen mekanizmalar lüteinizan hormon (LH) sekresyonundaki artış, hiperinsülineminin overler üzerindeki direk etkisi ve hiperandrojenemi olduğu düşünülmüştür (61).

Luteal faz defekti olarak adlandırılan korpus luteum veya plesentadan yetersiz progesteron salgısının tekrarlayan gebelik kayıplarına yol açabileceği öne sürülmüş fakat bu durumun tekrarlayan gebelik kayıpları ile arasındaki ilişki net olarak ortaya konamamıştır (62).

Hiperprolaktinemi ile tekrarlayan gebelik kaybı arasındaki ilişkiyi ortaya koyabilecek yeterli kanıt bulunmamakla birlikte TGK ile gelen yüksek prolaktin seviyelerine sahip hastalarda tedaviye bromokriptin veya cabergoline'in ilave edilmesi yanlıı olmayacaktır (63, 64).

4- Enfeksiyon Nedenler:

Bakteri, virus ve parazitler sporadik olgularda erken gebelik dönemini olumsuz etkileyebilmektedir. Günümüzde pek çok mikroorganizmanın düşüklere neden olabileceği söylene, tekrarlayan gebelik kayıplarında hiçbir ajanın bu süreçten sorumlu olduğuna dair kanıt bulunamamıştır. Bu nedenle enfeksiyon araştırmalarına yönelik testlerin yapılması ve ampirik antibiyotik tedavisinin başlanması önerilmemektedir (65, 66).

Enfeksiyon ajanların abortusa yol açma mekanizmaları ile ilgili bazı teoriler öne sürülmüştür. Bunlar, toksik metabolik ürün (endotoksin, ekzotoksin ya da

sitokinler) uterus veya fetoplasental yapıyı etkileyebileceği, fetüsün enfeksiyonun organ hasarı yaparak ya da fetusun kaybına yol açarak gebeliği sonlandırabileceği, plasental enfeksiyonu plasental yetmezlik ve fetal ölüm sebep olabileceği ve enfeksiyöz mikroorganizmaların assendan yolla endometriuma ulaşması ve endometriumun kronik enfeksiyonu (klamidy, üreplazma, mikoplazma) embrionun implantasyonunu engelleyebileceği olarak sıralanabilir. Bakteriyal vajinosi daha çok geç dönem sporadik düşüklere sebep olurken, tekrarlayan gebelik kayıplarından sorumlu değildir (67, 68). TORCH enfeksiyonlarının fetal enfeksiyonlara yol açtığı bilinmekte ancak bu enfeksiyonların tekrarlayan gebelik kaybına neden olabileceği saptanmamıştır (4, 65, 66).

5- İmmunolojik Nedenler:

Maternal immün sistem tarafından paternal antijenlerin tanınması ve buna bağlı olarak fetusun immünolojik rejeksiyonu anormal immün hücrelere ve sitokinlerin meydana gelmesine sebep olur. Bunun sonucunda paternal antijenlere karşı oluşan aşırı veya dengesiz maternal immün cevap ve sitokin üretiminin açıklanamayan tekrarlayan düşüklere neden olabileceği düşünülmektedir (69). Tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan olgularda farklı mekanizmalar öne sürülmüştür. Bunlar, aktivitesi artmış uterin natural killer hücreleri veya makrofajla, bozulan trofoblast hücrelerine saldırıya neden olması, trofoblast hücrelerine sitokinlerin direk etkisi, kan akışı azalması sonucunda oluşan sitokinlerin damarlarda trombotik olaylara neden olması olarak sıralanabilir (66).

Tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan olguların endometriolarında normal gebelere oranla daha fazla natural killer hücreleri görülmüştür. Normalde endometriumda CD56^{bright} natural killer hücresi daha çok bulunur. Bu hücrelerin trofoblast öldürücü etkisi daha az olup trofoblastların büyümesine olanak sağlar. Birçok yazıda desiduada CD56^{bright} natural killer hücre defekti ve periferik kanda yüksek oranda natural killer hücre sitotoksitesi (CD56^{dim}) bulunması abort riskinde artışlara neden olabilmektedir (70, 71, 72).

Sitokinler doğal ve adaptif immünitede rol alan ve hücrelerin immün fonksiyonlarını sağlayan proteindir. CD4+ T- helper (Th) hücreleri sitokin üretimindeki major immün hücrelerdir. CD4+ Th 3 gruba ayrılır. Th 1 hücreleri IFN- γ ,

interlökin (IL) 2, tümör nekrozik faktör beta (TNF β), Th2 IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-10 üretir. Th-0 ise Th-1 ve Th-2' dönüşülebilen prekürsör hücrelerdir. Meta-analizler sonucunda normal reproduktif hikayeli kadınların süren sağlıklı gebeliklerinin ilk trimesterine oranla TGK yaşayan olgularda IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-10 üretiminin azaldığı; INF- γ , IL-2, TNF- α , TNF- β üretiminin arttığı görülmüştür (73).

İmmun sistemin bir parçası olan mannoz bağlayıcı lektin (MBL), monositlerden sitokin üretimini uyarmaktadır. Vücuttaki düşük düzeyleri TGK ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür. TGK ile gelen olgularda MBL taraması önerilmektedir (74).

HLA-G (insan lökosit antijeni) trofoblast hücrelerinden sentezlenerek, sitokinlerin üretilmesini pozitif katkıda bulunur. Aynı zamanda HLA-G embriyo tarafında salgılanarak başarılı bir gebelik için gereklidir. TGK olgularında HLA-G normal fertil kadınlara göre daha az bulunmuştur. HLA-D1 ve HLA-DR3 aleli içeren olgularda da TGK riskinin arttığı gözlenmiştir (75).

TGK yaşan olgularda antinükleer antikor (ANA) tespit edilmiş olup, gebelik seyrini kötü yönde etkilediği bildirilmiştir (76).

6- Çevresel Nedenler:

Sigara, alkol ve aşırı kahve tüketimi gebelik kaybına zemin hazırlayan çevresel faktörlerdir. Sigaranın doza bağımlı olarak gebelik kaybı riskini arttırdığı bildirilmiştir (77). Mekanizması sigaradaki nikotin, karbondioksit ve siyanidin vazokonstriktif ve antimetabolik etkileriyle plasental yetersizliğe yol açtığı şeklinde olduğu düşünülmektedir. Alkol, doza bağımlı yan etkileri olduğu bilinen bir teratojen bir maddedir. Alkol tüketimin spontan gebelik kayıp riskini arttırdığı bilinmektedir (78). Anestezik gazlar, kokain, radyasyon, organik çözücüler ve civa, kurşun gibi ağır metallerle maruz kalmak abortusların bir nedeni olarak bildirilmiştir (79).

7- Trombofilik Nedenler:

Trombofili, arteriyel ya da venöz tromboz gelişimine eğilimin artması durumudur. Gebelikte tromboembolizme ek olarak gelişebilecek gebelik

komplasyonları erken gebelik kayıpları, ölü doğum, preeklampsi, dekolman plesenta, gelişim geriliği, erken doğumdur (80). Trombofiliye yol açan birçok edinsel ya da kalıtsal neden tanımlanmıştır. Edinsel trombofililer içinde en sık görülenleri lupus antikoagülanı (LA) ve antikardiolipin antikorlarının bulunduğu hastalık olan antifosfolipid antikor sendromudur (AFAS). Kalıtsal trombofililer ise, protein C eksikliği, protein S eksikliği, antitrombin (AT) III eksikliği, aktive protein C rezistansı (Faktör V Leiden mutasyonu), protrombin G20210A mutasyonu, hiperhomosisteinemi, metilen tetrahidrofolat redüktaz'ın (MTHFR) C677T ve 1298 mutasyonu olarak sıralanabilir (81).

Gebelik, koagülasyonun arttığı bir durum olarak kabul edilmektedir ve gebelikte bu hiperkoaguabile durumu meydana getirecek hemostatik ve fibrinolitik sistemde birçok değişiklik olmaktadır. Gebelikte prokoagülan faktörlerden; fibrinojen, faktör 2, faktör 7, faktör 8, faktör 10, faktör 12, von Willebrand faktör (vWF) seviyelerinde artış meydana gelirken, faktör 11 ve faktör 13 seviyeleri aynı kalmaktadır (82). Antitrombin 3 ile protein C aktiviteleri stabil seyrederken, protein S aktivitesinde azalma gözlenir. Gebelik sırasında fibrinolitik aktivite azalırken, doğumdan hemen sonra hızlıca normale döner (83).

Fetal kayıp ile trombofilik bozukluklar arasındaki ilişkiyi araştıran 31 çalışmayı içeren metaanalizde faktör V leiden (FVL) mutasyonu erken ve geç tekrarlayan gebelik kaybı ve geç tekrarlamayan gebelik kaybı ile ilişkili bulundu. Aktive protein C rezistansı (APCR) erken tekrarlayan gebelik kaybı ile protrombin mutasyonu erken tekrarlayan ve geç tekrarlamayan gebelik kaybı ile ilişkili olduğu ancak MTHFR mutasyonu, protein C (PC) ve AT- III eksikliğinin fetal kayıp ile anlamlı ilişkili olmadığı görülmüştür (84). Yine yapılan başka çalışmalarda da fetal kaybın protrombin mutasyonu ile ilişkili olduğu ancak MTHFR mutasyonu ile ilişkili olmadığı bildirilmiştir (85, 86).

Daha öncede söylediğimiz gibi trombofiliyi edinsel ve kalıtsal trombofililer olmak iki grupta incelemek mümkündür:

a) Edinsel (akkiz) Trombofililer:

AFAS, otoimmün hastalıklar (sistemik lupus eritematozus (SLE), ülseratif kolit, behçet), endokrinolojik hastalıklar (DM, Cushing Hastalığı), hematolojik hastalıklar (paroksizmal nokturnal hemoglobinüri, myeloproliferatif hastalıklar), karaciğer hastalıkları, nefrotik sendrom, heparine bağlı trombositopeni, maligniteler, obezite, immolizasyon, oral kontraseptif (OKS) kullanımı başlıca edinsel trombofililerdir.

(1) AFAS:

Vasküler tromboza neden olan AFAS otoimmün bir hastalık olup gebelikte en sık görülen edinsel trombofilidir (87). AFAS, TGK, intrauterin gelişme geriliği (IUGG), preeklampsi, açıklanamayan intrauterin ölüm, spontan abortus gibi birçok kötü obstetrik öykülere sebep olabilmektedir AFAS, TGK olgularının %5-15'inde görülmektedir (88).

Anti-FL antikorlarının varlığında fetal kaybın temel nedeni intervillöz trombüsler, intravillöz infarktlar ve desidual vaskülopati sonucu gelişen uteroplesental dolaşımın bozulması ve buna bağlı olarak gelişen fetal hipoksidir. Antifosfolipit antikorları/ β_2 - glikoprotein kompleksleri maternal spiral arterlere proliferasyon ve invazyonu bloke ederek plesentada geniş enfarktüse, nekroz ve trombozlara sebep olmaktadır.(89).

Birçok AFA olasına rağmen Antikardiolipin antikor (AKA) ve Lupus antikoagülanı (LA) yaygın kabul görmüş AFA'lardır. AFAS tek başına olabileceği gibi otoimmün hastalıklara sekonder görülebilir. Her iki tipte de tromboz ve fetal kayıp açısından klinik aynıdır (90).

AFAS'ın tanısının konulabilmesi için klinik ve laboratuvar bulgularından en az birer tanesinin bir arada bulunması gerekmektedir:

AFAS Tanı Kriterleri (91) :

Klinik tanı kriterleri:

- 1- Bir veya daha fazla herhangi bir tip vasküler trombozun olması (arterial, venöz, küçük damarlar)
- 2- Gebelik komplikasyonları:
 - o 10. Gebelik haftasından önce gelişen 3 veya daha fazla spontan abortus (maternal anatomik, hormonal veya ebeveynlere ait kromozomal anomaliler dışlanmalıdır)
 - o 10. Gebelik haftasından sonra morfolojik olarak normal fetus varken gelişen açıklanmayan bir veya daha fazla fetal ölüm
 - o 34. Haftadan önce ciddi preeklampsi ve plasental yetmezliğin eşlik ettiği preterm doğum

Laboratuvar tanı kriterleri: (12 hafta aralıklarla yapılan iki veya daha fazla ölçümde pozitiflik olmalıdır.)

- 1- Yüksek seviyede IgG ve IgM tipindeki anti-kardiyolipin antikorları
- 2- Lupus antikoagülanın pozitif olması (fosfolipit bağımlı koagülasyon testlerinde -PTT vb- uzama olur)
- 3- Anti- β_2 - glikoprotein-1 antikorlarının (IgG veya IgM) titresinin >99. Persentil olması

AKA sendromu daha çok hem arteriyel hem venöz trombozla ilişkili iken LA ise sadece venöz trombozla ilişkilidir. AKA ve LA saptanan olgularda prematür koroner arter hastalığı, prematür serebrovasküler hastalık ve retinal vasküler hastalıklarda sık görülür. IgG ve IgM' deki yükseliş kötü obstetrik sonuçlar ile ilişkilidir (92).

b) Kalıtsal Trombofililer:

Kalıtımsal trombofililer koagülasyon sisteminin bazı elementlerinin eksikliği sonucunda ortaya çıkmaktadır. Maternal tromboembolik ataklar normal populasyona göre 8 kat artmıştır (93). Kalıtsal trombofili, gebelik ve lohusalıkta artmış tromboembolik hastalık riskinin yanında artmış preeklampsi, plasenta ablasyonu, ölü doğum ve IUGG gibi kötü neonatal sonuçlarla da ilişkilidir (94, 95)

(1) Protein C Eksikliği:

PC vitamin K'ya bağlı karaciğerden sentezlenen bir glikoproteindir (96). PC, doğal bir antikoagölan olup primer etkisi trombin oluşumunda ve faktör X aktivasyonunda etkili bir rol oynayan faktör Va ve VIIIa'yı inhibe eder ve tromboz riski artarak fetal kayıpların sebebi olabilmektedir. Diğer doğal bir antikoagölan olan protein S (PS) varlığında bu işlem son derece hızlanmakta ve kolaylaşmaktadır. Protein C eksikliği toplumdaki sıklığı 1/200 ile 1/36000 gibi değişik oranlarda bildirilmiş olup genetik otozomal dominant geçiş göstermektedir (97, 98).

Her ne kadar gebelikte birçok koagölasyon faktörünün seviyesi değişiyor olsa da, fonksiyonel ve antijenik protein C seviyelerinde değişme olmaz (98) Protein C eksikliğinde artmış koagölasyondan dolayı TGK, preeklampsi ve IUGG vb. kötü obstetrik sonuçlar görölebilir (99).

(2) Protein S Eksikliği:

Protein S (PS), temel olarak karaciğer tarafından, daha az miktarlarda endotel ve megakaryositler tarafından sentezlenen K vitamini bağımlı bir glikoproteindir. PS, PC'nin kofaktörü olarak görev yapar. PS varlığında aPC faktör Va ve faktör VIIIa'yı inaktive ederek trombin olumunda azalmayı sağlar. Gebelik sırasında serbest PS ve total PS'de normal değerlerin % 50'si kadar azalma gösterir ve PS düzeylerindeki bu düşüş PC'nin fonksiyonunda azalmaya neden olur (100). PC ve PS eksikliği ile ilgili tromboza eğilimi arttıran 170'in üzerinde mutasyon saptanmıştır (101). Protein S eksikliği toplumda 1/200 ile 1/33000 olarak bildirilmiştir (102).

(3) Antitrombin III Eksikliği:

AT III doğal bir antikoagölan olup karaciğerden sentezlenen K vitamin bağlı bir glikoproteindir (103). AT III eksikliği otozomal dominant geçiş gösteren trombogenik bir bozukluktur. AT III koagölasyon şemasının doğal bir inhibitörü olup serin proteaz yapısındaki faktör Xa, IXa, XIa ve XII'nin çalışmasını engelleyerek etki göstermektedir. AT III eksikliğinde ise, trombin yapımının arttığı görölmektedir (104). Antitrombin III eksikliğinin insidansı çeşitli çalışmalarda 1/600 ile 1/5000 arasında olduğu belirtilmektedir (105).

Kalıtsal trombofilik hastalıklar içinde en trombogenik olan AT III eksikliğidir. Bu hastaların tüm ömrü boyunca en az %50'si tromboembolik bir hastalıkla karşı karşıya gelir(106). Aynı zamanda AT III eksikliği TGK, IUGG, preeklampsi, fetal kayıp gibi kötü obstetrik sonuçlarla da ilişkilidir (107).

(4) Aktive Protein C Rezistansı (Faktör V Leiden mutasyonu)

Kalıtsal trombofililer içinde en sık görülen faktör V lieden (FVL) mutasyonudur. APCR olan olguların %90'nında FVL mutasyonu olduğu görülmüştür (108). FVL mutasyonu otozomal dominant geçişlidir. FV genindeki nokta mutasyonu sonucunda oluşan mutant FVL dolaşımdaki doğal antikoagulanlara daha dirençli hale gelir ve kanda daha fazla kalarak trombin oluşumunu artırır. Olgulardaki mutasyon homozigot ya da heterozigot olarak bulunabilir. Her iki mutasyonda da gebelik kaybı riskini artırmaktadır (84). FVL mutasyonunun insidansı toplumlar arasında farklılık göstermekle birlikte ülkemizdeki insidansı % 9,1'dir (109). Eğer kişinin özgeçmişinde vasküler tromboembolik hastalıklar, gebeliği boyunca yaşanan rekürren veya erken dönemde ortaya çıkan preeklampsi, TGK, intrauterin fetal kayıp, ablasyo plasenta, IUGG FVL mutasyonu taranmalıdır (110).

FVL mutasyonundan bağımsız APCR olmasında, gebelerde trombotik hastalıklar açısından risk faktörüdür. Açıklanamayan TGK'ların %9-%38'ini oluşturmaktadır. Sağlıklı gebelerde de bir miktar APCR olmakta ancak altta yatan FVL mutasyonu ile birlikte gebede olan APCR gereğinden daha fazla aktif olup fetal kayıplara sebep olabilmektedir (111).

FVL mutasyonu uteroplasental yatakta tromboza neden olarak preeklampsi, IUGG, TGK gibi kötü obstetrik sonuçlar doğurabilir (112, 113). APCR'nın ve FVL mutasyonun açıklanamayan TGK'ların etyolojisinde yer aldığını belirten yayınlar bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada FVL taşıyıcısı olan ve olmayan gebeler karşılaştırılmış, TGK riskinin FVL taşıyıcılarında (özellikle homozigot) daha fazla artmış olduğu belirtilmiştir. TGK'nın %80'inin ise özellikle ilk 16 haftada olduğu vurgulanmıştır (114) .

Yine bir çalışmada FVL mutasyonunu olan gebelerde 1. trimesterde TGK yaşayanlar %28 iken sağlıklı kişilerde bu oran sadece %3'dür (115).

(5) Protrombin G20210A Gen Mutasyonu:

Protrombin, karaciğerde sentezlenen K vitamini bağımlı bir glikoproteindir. Protrombin genindeki bir nokta mutasyonu sonucu "G20210A" polimorfizmini tanımlamış bunun sonucunda dolaşımda protrombin seviyeleri artmıştır. Artan protrombin seviyesi faktör II inaktivasyonuna neden olarak hastalarda venöz tromboz riskini artırmaktadır. Gebelik sırasında yaşanan tromboembolik olayların %17'sini oluşturmaktadır (116)

Türkiye'de yapılan çeşitli insidans çalışmalarında protrombin gen mutasyonu sıklığı %1.2 ile %2.7 arasında bulunmuştur (117-120). TGK yaşayan olgularda yapılan çalışmalarda ise protrombin gen mutasyonu sıklığı bu hasta grubu için %4-9'dur. Kapsamlı meta-analizler sonucunda protrombin gen mutasyonunun erken ve geç TGK'yi 2-3 kat artırdığı sonucuna varılmıştır (84). IUGG ve ablasyo plesenta yaşayan gebelerde protrombin gen taşıyıcılığı açısından anlamlı fark tespit edilmiştir (121). 3. trimester intrauterin fetal ölüm etyolojisini araştıran bir diğer çalışmada protrombin gen mutasyonu anlamlı bulunmuştur (84, 122).

(6) Hiperhomosistinemi ve MTHFR Gen Mutasyonu

Homosistein; vitamin B6, B12, folik asit gibi kofaktörlerin ve MTHFR enziminin de rol aldığı metionin aminoasitinin metabolizması sırasında oluşmaktadır. Homosistin ya sistation B sentaz ile sistationa dönüşür ya da MHTFR ve metionin sentaz ile metionine dönüşür. Bu kofaktörlerin eksikliklerinde ya da enzimin aktivitesinin azalmasında hiperhomosisteinemi görülmekte ve tek başına bulunması bile venöz tromboz oluşma riskini artırmaktadır. MTHFR gen mutasyonu otozomal resesif geçişli olurken, sistation B sentaz defekti otozomal dominant geçişlidir. TGK riskini ise 3-4 kat arttırdığı söylenmektedir (123, 124). MTHFR genindeki homozigot 667C-T mutasyonu sonucunda dolaşımda homosistein seviyesi yaklaşık %25 artmıştır. Bu da tromboz açısından bir risk faktörü oluşturmaktadır (125).

Heterozigot ve homozigot olmak üzere iki tip mutasyon vardır. Homozigot hiperhomosisteineminin TKG'nın etyolojisinde yer aldığı söyleyen yayınlar olsada bazı meta-analizlerde erken veya geç TKG ile arasında ilişki bulunamamıştır (84, 126).

MTHFR gen mutasyonunun genel populasyondaki insidansı %12 olarak tespit edilmiş olup (127), Türkiye'de ise bu oran homozigot mutasyonda %5, heterozigot mutasyonda %35'dir (128).

Gebelerde hiperhomosisteineminin fetusa etkileri geliştiği haftaya göre değişkenlik göstermektedir. Erken dönemde gelişirse fetal kromozomal anomaliler, tekrarlayan erken gebelik kayıpları, ileri gebelik haftalarında oluşursa plesental vasküler patoloji sonucunda dekolman plesenta plesental infarkt, preeklampsi gibi kötü obstetrik sonuçlar görülebilir(127).

Yapılan bir çalışmada ise MTHFR C677T homozigot ya da heterozigot mutasyonunun erken gebelik kayıpları ile arasında bir ilişki aranmış fakat bulunamamıştır. Yine yapılan bir çalışmada ise MTHFR C677T ve MTHFR A1298C gen mutasyonları ile TKG arasında bir ilişki bulunamamıştır (129). Görüldüğü gibi literatürde farklı görüşler bulunmaktadır ve hiperhomositemi ile TKG ilişki net ortaya koyulamaktadır.

Over Rezervi

Over rezervi, overlerde follikülogenez ve steroidogenez aktivitelerini yapan follikül havuzunun büyüklüğü, oositlerin kalitesi ve yeterliliği olarak tanımlanabilir. İlerleyen yaşla birlikte folikül havuzunun azalması kadınların üreme özelliklerinde de azalmaya yol açmaktadır. İntrauterin yaşamda primordial germ hücreleri 6. haftada 10 bin iken, 8. Haftada 600 bine, 20. haftada ise 6 milyona kadar gelirken 24. Haftadan sonra hızla azalmaya başlayarak yenidoğanda 1 milyon civarında bulunmaktadır. Puberteye kadar bu sayı logaritmik olarak azalarak 300-400 binlere kadar gerilerken, bu oositlerin sadece %1'i ovule olmaktadır (130, 131).

Over rezervi yaş, İnhibin-B ve AMH, menstrüel siklusun 3. günü bakılan FSH, E₂ ve progesteron (P) ölçümleri gibi statik testler kullanılırken, klomifen sitrat testi

(CCCT), GnRHa stimülasyon testi (GAST), eksojen FSH stimülasyon testi (EFORT) gibi dinamik testlerde kullanılabilir. Ultrasonografik olarak değerlendirilen over hacmi, erken foliküler fazda yapılan tranvajinal ultrasonografide overdeki antral folikül sayısı (AFC), over sistolik akım hızı over rezervini gösteren diğer uygulamalardır (132). Bunların arasından AMH ölçümü menstrüel siklusun her döneminde bakılabilmesi, gonodotropinlerden bağımsız olması nedeniyle ön plana çıkmaktadır (133).

Sebebi belli olmayan TGK'sı olan olgularda yapılan bir çalışmada menstrüel siklusun 3. günündeki serum E₂ ve FSH seviyeleri normal popülasyona göre daha yüksek bulunmuştur. Artan FSH ve E₂ oosit sayısını ve kalitesini düşürecek, bu oositlerden oluşan embriolarda daha fazla kromozomal anomali ve abort olma ihtimali yükselecektir (11). Bu risk artışı hastalık ya da cerrahi sebeplerden dolayı over rezervini kaybeden hasta grupları içinde geçerlidir. Yaştan bağımsız olarak kromozomal anomali olan bir fetusa sahip olguların da diğer yaşlılarına göre daha erken menapozla girdiği gösterilmiştir (134).

TGK yaşayan olgularda menstrüel sikluslarının 3. gününde FSH ve E₂ bakılması faydalı olacaktır. Yeterli bir over rezervinden söz edebilmek için serum FSH düzeyinin 15 mIU/mL 'den, E₂ düzeyinin ise 80 pg/mL 'den daha az olması gerekmektedir (11).

Sağlıklı kadınlarda yaşa bağımlı over rezervinin en iyi belirteci ise anti-müllerien hormondur (12).

Anti-Müllerien Hormon :

AMH, transforming growth faktör- β (TGF- β) ailesinin bir üyesi olup, müllerian inhibing substance (MIS) olarak da bilinir. 19. Kromozomun kısa kolunda yer alan AMH, 140 kDa molekül ağırlığında olup dimerik yapıda bir glikoproteindir (135). Gonad ve müllerien kanal üzerindeki etkilerini 12. Kromozom üzerinde lokalize olan tip1 ve tip 2 reseptörleri aracılığı ile yerine getirmektedir (136, 137).

AMH, erkeklerde testiküler gelişimin başlangıcından puberteye kadar testisteki sertoli hücrelerinden, kadınlarda ise doğumdan menapoza kadar overdeki granüloza hücrelerinden eksprese edilir ve primer follikülün formasyonunda görev alır (138, 139). AMH, erkek fetusta 7. haftada, dişi fetusta 36. haftada sentezlenmeye başlamaktadır. Sadece reproduktif organlara etkisi olduğu düşünülen AMH'ın erkek fetustaki varlığı müllerien kanalın gerilemesine ve erkek genital sisteminin oluşmasına neden olurken dişi fetusta embriyogenezde AMH'ın yokluğu fallop tüpleri, uterus ve vajen üst 1/3'ünün gelişmesini sağlamaktadır (140, 141, 142). Primer follikülün formasyonunda görev alan AMH FSH'nin etkisiyle preantral folliküllerin granüloza hücrelerinden dominant folikül olarak seçilebilecek büyüklüğe (4-6 mm) ulaşıncaya kadar sentezlenir. Folikül 8mm'ye ulaştığında AMH sentezi çokça azalır ve atreziye uğrayan folikülde artık AMH sentezlenmemektedir (143, 144).

Primordial folikülerin gelişmesi olumlu ve olumsuz birçok etkene bağlıdır. AMH folikülogenezde kritik bir role sahip olup erken foliküler gelişim üzerine olumsuz etkisi göz önünde bulundurularak yapılan ratlar üzerindeki bir çalışmada ratlarda homozigot AMH defekti oluşturulmuş sonucunda da preantral ve küçük antral folikülerde çokça büyüme tespit edilse de primordial folikül depolarının daha genç yaşta bittiği görülmüştür. Yine yapılan bir diğer çalışmada AMH'dan yoksun rat overi AMH'dan zengin suni ortama konulmuş ve takibinde gelişen folikül sayısının yarı yarıya azaldığı tespit edilmiştir. Buradan çıkarılacak sonuç ise AMH'ın primordial folikül formasyonunda görev aldığı preantral foliküllerin gelişmesini engellediğidir (145). AMH, FSH tarafından aşırı folikül gelişmesine engel olmaktadır. AMH bağımlı erken foliküler dönem ve folikül gelişimine olan pozitif etkilerinden dolayı AMH, over rezervinin değerlendirilmesi için oldukça spesifik bir biyomarkerdir. Yapılan bir çalışma göstermiştir ki, reproduktif çağıdaki kadınların antral folikül sayısı (AFS) ile erken foliküler fazdaki seviyesi oldukça koreledir. AMH, yaş ile de ters orantılı olup diğer over rezerv testleri olan FSH ve inhibin-B' ye göre daha erken düşüş gösterdiği için AMH diğer over rezerv testlerine göre bir adım daha öne geçmektedir (146).

Erkeklerdeki AMH düzeyleri kadınlara göre tüm ömürleri süresince hep daha yüksek olmuştur. Kadınlarda ise yenidoğan dönemlerinde AMH ölçülemeyecek kadar az, 2-4 yaşlarında az miktarda bir artış görülür. Puberteye kadar stabil

seyreden AMH yaşla birlikte folikül havuzundaki azalmaya bağlı olarak azalmaya başlar. Menopozda ise ölçülemeyecek seviyelere inmektedir (147). Ölçülen serum AMH seviyeri menstrüel siklusun farklı dönemlerinde bakılması sonucu etkilememektedir. Bu özelliği ile diğer over rezerv testlerinin önüne geçmektedir (148, 149). Serum düzeylerindeki küçük oynamalar siklik olmayan foliküllerin gelişmesinden ötürü olabilmektedir. Yaşın ilerlemesiyle birlikte folikül rezervinin azalması ve oosit kalitesinin düşmesi fertilitiyi olumsuz etkilemektedir. Doğal menopoz ve cerrahi menopoz sonrasında serum AMH seviyelerinin ölçülemeyecek seviyelere kadar inmesi AMH'ın tamamen over kaynaklı olduğunun bir kanıtıdır (147, 150, 151).

Yapılan bir çalışmada 7 yıl boyunca takip edilen olguların yaşla birlikte AMH düzeyleri %38 azalırken, FSH ve İnhibin-B seviyelerinin aynı kaldığı görülmüştür (146). Bu nedenle AMH'ın over rezervini gösteren diğer testlere oranla daha üstün bir test olduğu görülmüştür. AMH seviyerinde diğer testlere oranla daha erken dönemde düşüş görülmektedir (152). Aynı zamanda oral kontraseptif, GnRH agonisti kullanımı, menüstruasyon ve gebelikten sonuç etkilenmektedir (153).

Polikistik over sendromu (PKOS), prodüktif çağdaki kadınların %7'sini etkileyip, anovulatuvar infertilitenin en sık sebebidir (154). AMH seviyesi PKOS'lu olgularda yükselmektedir (155). Bunun sebebi olarak da PKOS'lu olgularda preantral ve küçük antral foliküllerin sayının çokça artması nedeniyle granüloza hücrelerinde AMH salgılanmasının artması olarak gösterilmiştir (156).

AMH yalnızca granüloza hücrelerinden sentezlendiği için granüloza hücreli tümörlerde (GHT) artış göstermektedir. GHT'li olguların %76-93'ünde AMH yüksekliği tespit edilmiştir (157, 158)

≤ 0.38 ng/ml çok kötü over rezervini, $>0.38 - \leq 2.19$ ng/ml düşük over rezervini, $>2.19 - \leq 4$ ng/ml normal over rezervini, $>4 - \leq 6.79$ ng/ml artmış over rezervini, ≥ 6.79 ng/ml PKOS'un varlığını gösterir (159).

Bizde bu çalışmamızda over rezervinin en iyi belirtecinin AMH olduğunu düşünüp TKG'da AMH değerlerinin nasıl değişeceğine bakmak istedik.

Çalışmamızın bir diğer parametresi de TKG'da neopterinin nasıl değiştiğidir. Neopterin nedir? Şimdide biraz neopterinini inceleyelim.

Neopterin

NP, hücrel immun sistemin aktivasyonu sonucu oluşan son dönemlerde en popüler biyokimyasal belirteçlerden biridir. Vücutta IFN- γ 'nın uyarısıyla monosit ve makrofajlar tarafından üretilmekte olup vücut sıvılarından salınmaktadır (13, 14). Bu nedenle etyopatolojisinde T lenfositlerin ve makrofajların yer aldığı birçok hastalıkta tanı için ışık tutacağı düşünülen bir biyomarkerdir (18). NP'nin hücrel immunité ile bağlantısı bir çok çalışmada gösterilmiş olup, günümüzde monosit ve makrofaj aktivasyonunun görüldüğü enfeksiyöz ya da enflamatuvar hastalıkların tanısında, şiddetinde ya da hastalığın progresyonunu öngörmeye kullanılabilmektedir (13,18,19).

NP, aromatik pteridinler grubunda yer almakta olup düşük molekül ağırlıklı 2-amino-4 hidroksi (1'2'3'trihidroksipropil) pteridindir (14, 15, 16, 18). NP insan vücudunda iki formda bulunmaktadır: Dihidroneopterin ve tetrahidroneopterin (15,17). INF- γ ; NP'nin en önemli üreticisi olup NP üretimi az da olsa lipopolisakkaritler, INF- α , INF- β ve TNF- α uyarısı ile de olmaktadır (16, 160, 161).Bakteriyel pirojen ve toksinler de NP üretimini uyarmaktadır (160).

NP, aktive edilmiş monosit ve makrofajlarda guanozin trifosfat (GTP) siklohidrolaz-1 aracılığı ile GTP'den sentezlenir (13, 14, 161) Enzimin aktivitesi daha çok IFN- γ olmakla birlikte INF- α , diğer sitokinler ve endotoksinlerle de artmaktadır. INF- γ , T lenfosit tip 1 ve natural killing (NK) hücrelerinden salınmakta olup vücut sıvılarındaki NP yoğunluğu INF- γ mevcudiyetinin bir göstergesi olmaktadır. Yani, NP hücrel immunitenin sensitif bir belirteçi olarak düşünülebilmektedir (13, 16, 131). Bakteriyel pirojen ve toksinler NP üretimini uyarmaktadır.

Monosit ve makrofaj aktivitesinin görüldüğü tüm hastalıklarda vücut sıvılarında NP konsantrasyonu artmaktadır. NP konsantrasyonunun ölçülmesi bize hastalığın gidişatı ve bağışıklık sisteminin hastalığa ne kadar cevap verdiğinin bir göstergesi olabilmektedir (160). Vücut sıvılarına NP salınımı T lenfosit proliferasyonun zirve yaptığı noktadan yaklaşık 3 gün önce başlar. Hastalıklarla ilgili

spesifik antikorların pozitifleşmeye başlamasından yaklaşık 1 hafta önce de NP konsantrasyonunda yükselme tespit edilir. NP'nin bu özelliği nedeniyle erken dönem gösterge olabilmesi klinik açıdan önem taşımaktadır (162).

NP, birçok malignite, otoimmün hastalık ya da enfeksiyöz hastalıklarda klinik seyir ve verilen tedaviye yanıtı değerlendirme amacıyla kullanılabilmektedir. Bu hastaların neredeyse hepsinde vücut sıvılarında NP konsantrasyonlarında artış görülmüştür (160).

NP, aynı zamanda apoptozisi indükleyerek anti-oksidan olarak da görev yapmaktadır. Hastalıklarda oluşan patojenlere karşı gelişen reaktif oksijen metabolitlerinin etkilerini indükleyerek patojenlere karşı sitotoksik etki yapar (163) .

Sağlıklı bireylerde ELİSA ve RİA yöntemiyle çalışılan normal NP seviyeleri 1.34 ± 0.68 ng/mL dir (14). Üst sınır 3 ng/mL'dir (13, 160).

NP'nin eritropoezis üzerine inhibitör etkisi olduğu düşünülmüş yapılan çalışmalarda serum demir seviyesinin azalması monosit ve makrofaj aktivasyonuna neden olarak NP'in salınımını arttırdığı görülmüştür (17). Anemi birçok kronik hastalığa eşlik etmektedir. Özellikle malignitelerde ve kronik inflamatuvar hastalıklarda kötü prognoz göstergesi bile olabilmektedir. Romatoid artrit gibi bazı otoimmün hastalıklarda da anemi görülmekte, bu olgularda Th1/Th2 oranı artmaktadır. TH1 lehine olan bu artış serum NP seviyesini de arttırmaktadır (164).

NP düzeylerindeki artış hücrel immün yanıtı aktive eden viral enfeksiyonlar başta olmak üzere bakteriyel ve paraziter enfeksiyonlarda da görülmektedir (18, 160). Bakterilerin neden olduğu hastalıklarda primer sorumlu INF- γ olduğu için bu tür bakteriyel enfeksiyöz hastalıklarda NP konsantrasyonları yüksek bulunur (165). Paraziter hastalıklardan olan leişmaniyazis ve malarya gibi hastalıklarda serum NP konsantrasyonlarında artış görülmektedir (13). HIV, sitomegalavirüs, hepatit-B, hepatit-C, Ebstein-Barr virus, kızamık, kabakulak, rubella ve influenza gibi viral hastalıklarda da serum NP konsantrasyonları artmaktadır (14, 160, 166, 167). Ancak en yüksek NP seviyeleri septik şokta izlenmektedir (168).

Birçok malign hastalıklarda serum NP konsantrasyonları ölçülmüş, anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuş, bu yükseklik tümör evresi ve hastalığın prognozu ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (169, 170). Over, endometrium, serviks, meme, tiroid, pankreas, kolon, akciğer kanserlerinde, multiple miyeloma, kaposi sarkomunda serumda ya da idrarda ölçülen NP seviyeleri yüksek bulunmuştur (170-180).

Romatoid artrit, glomerulonefrit, sjögren sendromu, sistemik lupus eritematozus, diyabetes mellitus, akut romatizmal ateş, crohn hastalığı, ülseratif kolit, graves hastalığı gibi otoimmün hastalıklarda serum ve idrarda NP konsantrasyonlarının diğer sağlıklı kişilere göre arttığı gözlenmiştir. Bu tip hastalıklarda makrofaj infiltrasyonunun görüldüğü vücut bölgelerinde NP üretimi arttığı görülmüştür(13, 19, 160).

Kardiyak hastalıkların en ciddi nedenlerinden biri olan ateroskleroz kronik inflamatuvar bir süreçtir. Ateroskleroz akut ya da kronik koroner sendromda yüksek NP seviyeleri görülmüştür aynı zamanda kardiyomiyopati veya miyokardit gibi hastalarda tespit edilen yüksek NP konsantrasyonların kardiyolojik fonksiyonlarla ilişkili olduğu tespit edilmiştir (181). Miyokard enfarktüsü geçiren hastalarda yapılan ölçümlerde NP seviyelerinde artış izlenmiştir ancak bu hastalara verilen trombolitik tedaviden sonra NP seviyelerinde de düşüş görülmüştür. Yine serebral iskemide de NP seviyeleri artmıştır (182, 183).

Böbrek yetmezliği, glomerulonefritler, diyabetik nefropati renal transplantasyon doku reddi gibi hastalıklarda serum ve idrarda neopterin seviyeleri yüksek tespit edilmiştir (184-186). Renal hücreli karsinomada serum β_2 -mikroglobulin, neopterin ve ve immunoglobulin-A (Ig A) seviyelerinin arttığı görülmüştür (187).

Gebelikte neopterin artışı kötü obstetrik sonuçlarla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Gebelikte geçirilen bakteriyel ve viral intrauterin enfeksiyonlarda, preeklampside, erken doğumda serum NP seviyelerinde artış görülmektedir . aynı zamanda yenidoğan serum NP düzeyleri belirgin yüksek bulunmuştur(188).

III- MATERYAL VE METOD

Çalışmamız Nisan 2016 ve Ağustos 2016 tarihleri arasında Dumlupınar Üniversitesi Tıp Fakültesi Evliya Çelebi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum kliniğinde gerçekleştirildi. Çalışmamıza 12. Gebelik haftası öncesinde ardı ardına en az 2 abortusu olan 53 hasta ve hiç abortus ve gebelik komplikasyonu öyküsü olmayan en az 1 tane sağlıklı doğum yapmış 57 sağlıklı kişi olmak üzere toplam 110 kişi alınmıştır. Her hastadan bu çalışmaya katılmayı kabul ettiğine ilişkin yazılı onam formu alındı. Çalışma için Dumlupınar Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Komisyonundan 14.04.2016 tarihinde 2016-5-30 karar numarası ile onay alınmıştır.

Çalışmamızda uyguladığımız dışlama kriterlerimiz:

1. Sistemik hastalık öyküsü; Neopterinin inflamasyon durumlarında (otoimmünite, malignite, vb) arttığı daha önceden gösterildiği için sonuçları etkileyebileceğinden dolayı dışlanmıştır.
2. Human immunodeficiency virus (HIV) pozitif hastalar; Neopterin etkilediğinden dolayı dışlanmıştır.
3. Kronik veya akut inflamasyon/ enfeksiyon geçirenler; Neopterin etkilediğinden dolayı dışlanmıştır.
4. Jinekolojik cerrahi öyküsü (myomektomi, overyan cerrahi, salpenjektomi, ektopik gebelik vb); AMH'ı düşürdüğünden dolayı dışlanmıştır.
5. 35 yaş üstü hastalarda AMH düştüğü için bu kişiler çalışmaya dahil edilmemiştir
6. 18 yaş altı hastalar
7. İlaç kullanımı
8. TGM nedenlerinden herhangi biri (trombofililer, uterin anomaliler, endokrin bozukluklar, sigara ve alkol kullanımı, tesbit edilmiş olan hastalar, genetik nedenler, immünolojik nedenler, enfeksiyöz nedenler) tesbit edilmiş olan hastalar.

Çalışmamızda hastaların yaşı, gravide, parite ve abortus sayıları, doğum şekilleri, akraba evliliği olup olmadığı, öğrenim durumları, meslekleri, gelir düzeyleri, kronik sistemik hastalıkların (diabetes mellitus, tiroid hastalıkları, karaciğer hastalıkları, böbrek hastalıkları, kalp hastalıkları, otoimmün hastalıklar, malignensi

vs.) varlığı, periferik kanda tam kan sayımları, sigara kullanımı, venöz tromboz öyküsü, ilaç kullanımı ve ameliyat öyküleri sorgulandı.

Kliniğe başvuran ve çalışma kriterlerine uyan tüm hasta ve kontrol grubundan rutin kontrol amaçlı istenen hematolojik testler için kan alımı sırasında ayrıca 4'er ml kan alındı. Kan numuneleri 10.000 rpm/dak ile 10 dakika santrifüj edilerek serumları elde edildi. Serumlar steril şeffaf 2 ml'lik eppendorf cryo tüplerine alındı. Örnekler çalışma anına kadar -80°C'lik dondurucuda muhafaza edildi. Numunelerin alınması ve saklanması sırasında numuneler sürekli olarak ışıktan korundu. Çalışmada hemorajik, ikterik ve lipemik serumlar çalışmaya alınmadı. Numuneler özel bir biyokimya laboratuvarında Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemiyle bir Tıbbi Biyokimya uzmanı tarafından çalışıldı.

Hastaların sonuçları incelenirken hasta ve kontrol grubu dışında hasta grubu iki ve ikiden fazla abortu olanlar şeklinde iki subgruba ayrıldı. Yine hasta grubunda yaşlara göre 18-25 yaş, 26-30 yaş ve 31 yaş üstü olacak şekilde 3 subgrup oluşturuldu.

Neopterin Ölçüm Prensipleri:

Human Serum Neopterin ELISA kiti (DRG® Neopterin) serum örneklerinde NP düzeylerini ölçmek için bir immünassaydir. Bu yöntem spesifik bir antijenin antikora bağlanma prensibine dayanmakta olup, antijen ya da antikor bir enzim ile işaretlenmekte ve immünolojik reaksiyon enzimatik bir aktivite sonucu ölçülmektedir. Enzimle bağlanmış (işaretlenmiş) antijenler ve normal antijenler (serum numunesi) ortamda mevcut bulunan az sayıdaki spesifik antineopterin antikoruyla konjuge olabilmek için yarışır. Eğer ortamda işaretlenmemiş antijen daha fazlaysa spesifik antikora işaretlenmiş antijenler daha fazla konjuge olacağından işaretlenmemiş antijenler daha az oranda konjuge olurlar. Bir serum örneği ile içinde bilinen sayıda enzimle işaretli konjuge NP serumu spesifik antineopterin antikoru ile kaplı başka bir serum üzerine eklenir. 2 saatlik enkübasyon sonrasında fosfatlı tampon solüsyonu ile yıkama yapılarak konjuge olmamış işaretli ve işaretli antijenler ortamdaki uzaklaştırılmış olmaktadır. İşaretli antijenleri ölçmek için amacıyla bu işaretli antijenleri renklendirmek için antijen renklendirici substrat tetrametilbenzidin (TMB) ortamına eklenir. 30 dakika bekledikten sonra reaksiyonu durdurmak için bir çeşit

solusyon ortama eklenir. Takiben renk yoğunluğu spektrofotometrik olarak ölçülür. Absorbans değeri ortamdaki rengin yoğunluğu ile artmaktadır ve ölçülen NP değeri ile ters ilişkilidir. Bir başka deyişle absorbans ne kadar fazla ise serum NP düzeyleri o kadar az demektir. Normal değer aralığı 0,3-3 ng/ml (x 3.95 nmol/L)'dir.

AMH Ölçüm Prensipleri:

AMH, DSL (systems laboratories, Inc./USA) firmasına ait ELİSA yöntemiyle çalışıldı. Öncelikli olarak numuneler spesifik antikor ile kaplı kuyucuklara konulur. Antijen- antikor konjugasyonu için inkübasyon süresi beklenir ve sonrasında işaretlenmemiş antijenleri ortamdaki uzaklaştırmak için yıkanır. 2. basamakta kuyucuklar biotinlenmiş anti-AMH antikoruna ile inkübe edilir ve yıkama sonrasında renklendirme için TMB substratı eklenir. Reaksiyonu durdurmak için ortama durdurucu solüsyon eklenir. Oluşan renk spektrofotometrik olarak ölçülür. Daha sonra çizilen kalibrasyon eğrisinden çalışılan örneklerin konsantrasyonları hesaplanır.

İstatistik Analiz Yöntemi:

Araştırma nicel araştırma yöntemlerinden yarı deneysel modelde tasarlanmış betimsel bir araştırmadır. Nicel araştırmalar için parametrik ve parametrik olmayan istatistikler, elde edilen bağımlı değişkenlerin dağılımları dikkate alınarak seçilmiştir. Parametrik analizler için bağımsız gruplar için t testi ve ikiden çok grubu olan bağımsız değişkenler için ANOVA ve post hoc testi için Sidak analizleri seçilmiştir. ANOVA için farkın kaynağını bulmada gruplardaki denek sayısının birbirine eşit olmaması Post hoc için Sidak analizi seçilmiştir. Parametrik olmayan ölçümler için mann whitney u istatistiği, ikiden fazla grup olan analizlerde ise kruskall Wallis analizi uygulanmıştır.

IV- BULGULAR

Çalışmamıza katılan hasta grubunun yaş ortalaması 29,2 olup kontrol grubunun yaş ortalaması 30,2'dir. Çalışmaya katılan hasta ve kontrol gruplarının öğrenim durumları sorgulandı. %3,3 okur-yazar değil, %43,3'ü ilköğretim, %36,7'si ortaöğretim, %4'ü üniversite mezunu olduğu gözlemlendi. Meslekleri sorgulandığında ise %80'inin işsiz, %1,7'sinin öğrenci, %11,7'sinin memur, %3,3'ünün işçi yine %3,3'ünün serbest meslekle uğraştığı tespit edildi

Tablo-1'de gösterilen AMH ve NP'nin hasta ve kontrol grupları arasındaki karşılaştırma görülmektedir. Bu sonuçlara göre AMH'in hasta grubundaki ortalaması $1389,18 \pm 683,33$ pg/ml'dir ve kontrol grubunun $1845,85 \pm 718,33$ pg/ml olan ortalamasından düşük olup bu fark istatistiksel açıdan anlamlıdır ($t=-3,411$; $p=0,001$). Yine Tablo-1'de görüldüğü üzere NP'nin iki grup arasında karşılaştırılmasında hasta grubunun ortalaması $1,69 \pm 0,486$ ng/ml ve kontrol grubunun ortalaması $1,38 \pm 0,431$ ng/ml'dir, bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($t=3,536$; $p=0,001$).

| GRUPLAR | | N | Ortalama | Std sapma | t | sd | P |
|-----------|---------|----|---------------|--------------|--------|-----|--------------|
| AMH | HASTA | 53 | 1389,18 pg/ml | $\pm 683,33$ | -3,411 | 108 | 0,001 |
| | KONTROL | 57 | 1845,85 pg/ml | $\pm 718,33$ | | | |
| NEOPTERIN | HASTA | 53 | 1,69 ng/ml | $\pm 0,486$ | 3,526 | 108 | 0,001 |
| | KONTROL | 57 | 1,38 ng/ml | $\pm 0,431$ | | | |

Tablo-1: AMH ve Neopterin Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Grubu Arasında Karşılaştırılması

Hasta grubunda abortus sayısına göre toplamda iki abortus ve ikiden fazla abortus yapanlar olarak iki gruba ayrıldı. Abortus sayısı ile AMH ve Neopterin değerleri arasındaki ilişki gösterilmiştir. Abortus sayısı iki olan 21 hastanın AMH ortalaması $1782,38 \pm 612,49$ pg/dl, ikiden fazla abortusu olan 32 hastanın AMH

ortalaması $1131,15 \pm 606,45$ pg/ml olup daha az izlenmiştir ve bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($t=3,809$; $p=0$). Aynı şekilde bu iki grubun Neopterin değerlerine bakıldığında iki adet abortusu olan hastaların ortalaması $1,60 \pm 0,491$ ng/ml iken ikiden fazla abortus yapan hastaların nepterin değerlerinin ortalaması $1,75 \pm 0,481$ ng/ml'dir ve bu fark istatistiksel açıdan anlamlı değildir ($t=-1,115$; $p=0,270$).

| | Abortus Sayısı | N | Ortalama | Std sapma | t | sd | p |
|-----------|----------------|----|---------------|--------------|--------|----|-------------|
| AMH | =2 | 21 | 1782,38 pg/ml | $\pm 612,49$ | 3,809 | 51 | ,000 |
| | >2 | 32 | 1131,15 pg/ml | $\pm 606,45$ | | | |
| NEOPTERIN | =2 | 21 | 1,60 ng/ml | $\pm 0,491$ | -1,115 | 51 | 0,270 |
| | >2 | 32 | 1,75 ng/ml | $\pm 0,481$ | | | |

Tablo-2: AMH ve Neopterin Düzeylerinin Abortus Sayısı ile İlişkisi

AMH ve Neopterinini yaş aralıklarına göre değerlendirmek için hasta grubunu üç ayrı yaş aralığına böldük. Tablo-3'de de görüldüğü üzere 18-25 yaş arası olan grubun AMH değerinin ortalaması $1529,87 \pm 702,20$ pg/ml, 26-30 yaş grubunun ortalaması $1476,06 \pm 547,18$ pg/ml, 31 yaş ve üstü olan grubun ise $1389,18$ pg/ml olarak ölçülmüştür. Yaş ilerledikçe AMH düzeyinde düşüş olmakta fakat bu düşüş istatistiksel açıdan anlamlı değildir ($p=0,596$). Aynı şekilde Neopterin baktığımızda 18-25 yaş grubunda ortalama $1,40 \pm 0,565$ ng/ml, 26-30 yaş aralığında $1,58 \pm 0,565$ ng/ml, 31 yaş ve üstü olan grubun ise $1,83 \pm 0,512$ ng/ml ölçülmüştür. Neopterin değerinin yaşla birlikte arttığı izlenmiştir fakat bu artış istatistiksel açıdan anlamsızdır ($p=0,053$).

| | Yaş Aralığı | N | Ortalama | Std sapma | F | P |
|-----------|-------------|----|------------------|-----------|-------|--------------|
| AMH | 18-25 Yaş | 8 | 1529,87 pg/ml | 702,20 | 0,523 | 0,596 |
| | 26-30 Yaş | 16 | 1476,06 pg/ml | 547,18 | | |
| | 31 Yaş Üstü | 29 | 1302,44 pg/ml | 752,17 | | |
| | Total | 53 | 1389,18 pg/ml | 683,33 | | |
| NEOPTERIN | 18-25 Yaş | 8 | 1,40 ng/ml | 0,565 | 3,128 | 0,053 |
| | 26-30 Yaş | 16 | 1,58 ng/ml | 0,300 | | |
| | 31 Yaş Üstü | 29 | 1,83 ng/ml | 0,512 | | |
| | Total | 53 | 1,69 ng/ml | 0,486 | | |

Tablo-3: AMH ve Neopterin Değerlerinin Yaş Aralıklarına Göre Değerlendirilmesi

Çalışmaya katılan hasta ve kontrol gruplarında daha önceden hemogram sonuçları bakılarak platelet lenfosit oranları ile nötrofil lenfosit oranları incelenmiş, hasta grubunda anlamlı bir farklılık olup olmadığı istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Platelet lenfosit oranı, platelet sayısının lenfosit sayısına bölünerek elde edilmiş olup; nötrofil lenfosit oranı, nötrofil sayısının lenfosit sayısına bölünmesiyle elde edilmiştir. Tablo-4’de görüldüğü gibi nötrofil lenfosit oranı ortalama değeri hasta grubunda $2,91 \pm 1,81$; kontrol grubunda $2,12 \pm 1,04$ bulundu. Nötrofil lenfosit oranı hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p= 0,007$). Platelet lenfosit oranı ortalama değeri hasta grubunda $124,02 \pm 42,81$ olup, kontrol grubunda $122,63 \pm 34,63$ ‘dür. Platelet lenfosit oranı değerleri hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla daha yüksek bulundu fakat bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,852$).

| | GRUPLAR | N | Ortalama | Std sapma | T | Sd | p |
|--------------------|---------|----|-------------|-------------|-------|-------|--------------|
| Platelet/ lenfosit | HASTA | 53 | 124,0223166 | 42,81947245 | ,187 | 108 | 0,852 |
| | KONTROL | 57 | 122,6380067 | 34,63801694 | | | |
| Nötrofil/Lenfosit | HASTA | 53 | 2,91845 | 1,81 | 2,772 | 81,83 | 0,007 |
| | KONTROL | 57 | 2,12889 | 1,04 | | | |

Tablo-4: Hasta ve Kontrol Grubu Arasındaki Platelet/Lenfosit ve Nötrofil/Lenfosit Oranları



V- TARTIŞMA

Çalışmamızda göze çarpan en belirleyici bulgular hasta ve kontrol grupları arasında AMH'nin hasta grubunda anlamlı olarak düşük olması (bkz. tablo-1), NP'nin hasta grubunda anlamlı şekilde yüksek olması (bkz. Tablo-1), AMH'nin ikiden fazla abortusu olan hastalarda iki abortus olanlardan daha düşük olması (bkz. Tablo-2) ve nötrofil/lenfosit oranının hasta grubunda kontrollere göre anlamlı olarak daha yüksek olmasıdır (bkz. Tablo-4).

TGK yaşayan kadınların bazılarında altta yatan nedenin over rezerv düşüklüğü olduğu düşünülmüştür (11, 189).

Hofmann ve arkadaşlarının açıklanamayan TGK olgularında over rezerv testlerinin, normal popülasyonla karşılaştırıldığında daha yüksek oranda düşük olduğu tespit edilmiştir (189). Bu bulgular yaştan bağımsız olarak, folikül havuzunun azaldığı durumlarda gebelik kaybı riskinin arttığı gösterilmiştir (41, 42, 190, 191). Bu risk artışı, hastalık ve cerrahi nedenlerle over rezervini yitiren kadınlar içinde geçerlidir.

Trout SW ve arkadaşlarının 2000 yılında yaptığı çalışmada gösterdiği üzere sebebi bilinmeyen tekrarlayan gebelik kaybında mestürasyonun 3. gününde FSH ve E2 yüksek çıkmıştır. Çalışmada bu durum düşük over rezervi olan hastaların ileri yaşına bağlı olarak embriyoda kromozom anomalilerinin riskinin artması ile ilişkilendirilmiştir (11). Daha önce belirttiğimiz gibi AMH hem foliküllerin FSH'ya yanıtını düzenlemekte hem de onların atreziye gitmesini engellemektedir.

Tablo-1'de görüldüğü üzere AMH hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı seviyede düşük izlenmiştir. Bu sonuç bizim hipotezimizle uyumlu olmakla birlikte Trout SW ve arkadaşlarının yaptığı çalışmanın sonuçları ile de örtüşmektedir (11). Bayanlarda AMH seviyelerinin yaş ile birlikte düştüğü bilinmektedir (146). Yaş ilerledikçe oosit kalitesinin azaldığı ve kromozom anomali riskinin arttığı tane bilinen bir faktördür. Ancak bizim çalışmamızda çıkan bu sonucun hasta ve kontrol grubu arasında belirgin yaş farkı olmamasından dolayı sadece yaşın ilerlemesi ile oosit kalitesi ve kromozom anomali riski arasındaki ilişkiyle açıklanamayacağını düşünmekteyiz. Durlinger AL ve arkadaşlarının 2002 yılında yaptığı çalışmada AMH

yokluğunda foliküllerin FSH'ya daha duyarlı olduğunu göstermişlerdir (145). Normalde overde gelişime başlayan birçok antral folikülden en kaliteli olan seçilime girmektedir. AMH seviyesi az olan hastalarda FSH'ya daha duyarlı hale gelen foliküllerden dolayı bu seçim mekanizmasının bozularak daha kaliteli embriyoların oluşmasını engellediğini ve bununda gebelik kaybı riskini arttırdığını düşünmekteyiz.

So Hyun ve arkadaşlarının 2015 yılında yapmış olduğu bir araştırmada fetal anöploidi nedeniyle 13 hafta öncesi erken gebelik kaybı yaşamış 462 hasta çalışmaya alınmış, abort materyalinde fetal karyotipleme yapılmış, bunlardan 251'inde fetal anöploidi tespit edilmiştir. Bu iki grup arasında AMH değerleri karşılaştırılmış fetal anöploidi olan grupta AMH değerleri anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Yani düşük maternal AMH seviyeleri fetal anöploidinin neden olduğu erken gebelik kayıplarının önceden tahmin eden bir biyomarker olabilir kanısına varılmıştır (192). Erken gebelik kayıpları embriyonun kalitesiyle yakından ilişkili olup, embriyonun kaliteside oositle kalitesiyle ilişkilidir. Kalitesiz oosit ile oluşmuş embriyo yüksek olasılıkla abortus ile sonuçlanmıştır. Bizde oosit kalitesini en iyi göstergesi olan AMH ile tekrarlayan gebelik kayıpları arasında anlamlı bir ilişki aradık ve anlamlı bir sonuç elde ettik. Yapmış olduğumuz çalışmanın bu çalışmaylada örtüşüğünü gördük.

Hasta grubunu kendi içerisinde iki ve ikiden fazla düşük olanlar şeklinde ayırdığımızda ise AMH'ın ikiden fazla düşük yapan grupta anlamlı düzeyde daha düşük olduğu görülmektedir (bkz, Tablo-2). Bu sonuç over rezervi azaldıkça düşük sayısının artması şeklinde yorumlanabilir ve yukarıda belirttiğimiz AMH'ın folikül seçimindeki rolü ile ilgili öne sirdüğümüz görüşüde desteklemektedir.

Üç ayrı yaş grubuna ayırdığımız hastaların AMH değerleri yaşla birlikte azalmakta ancak bu fark istatistiksel açıdan anlamlı değildir. Bu sonuca bakıldığında hastalarımızın yakın yaş grubunda olması ve otuzbeş yaş üstü olan hastaların çalışmaya dahil edilmemesinin bu sonuca etkili olduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca yaş grupları arasında anlamlı fark olmayışının hasta ve kontrol grubu arasındaki AMH farkının yaştan bağımsız olarak gebelik kaybı ile ilişkisini daha da kuvvetlendirdiğini düşünmekteyiz.

NP'nin hasta ve kontrol grubunda seviyelerine bakıldığından hasta grubunda istatistiksel açıdan anlamlı bir yükseklik olduğunu görmekteyiz (bkz. Tablo-1). Daha önce belirttiğimiz gibi NP otoimmün ve enfeksiyöz durumlarda yükselen enflamasyonu gösteren bir moleküldür. Tekrarlayan gebelik kaybı olan grupta yüksek olması bu hastalarda henüz tanımlanmamış ve reproduktif sistemide etkileyen bir otoimmün hastalığın olabileceğini veya hastaların bir şekilde subklinik endometrit yapabilecek mikroorganizmalara maruz kalmış olabileceğini düşünmekteyiz. Bilinen tekrarlayan gebelik kaybı nedenleri dışlanmış hastaların, otoimmün hastalıklara sahip olanların ve aktif enfeksiyonu olan hastaların dışlanmış olması hasta grubundaki anlamlı neopterin yüksekliğine yönelik olan bu düşüncemizi destekler niteliktedir.

NP seviyelerinin hasta grubunda yaş ile birlikte arttığını fakat bu artışın anlamlı olmadığını Tablo-2'de görülmektedir. Bu sonucun hasta grubu sayısında daha fazla kişi olsa idi anlamlı çıkabileceğini düşünmekteyiz.

Hasta ve kontrol grupları arasında Nötrofil/lenfosit oranının hasta grubu lehine anlamlı derecede yüksek olduğu görülmekte (bkz. Tablo-4). Nötrofil/lenfosit oranının enfeksiyon gibi enflamatuvar durumlarda yükseldiğini daha önce belirtmiştik. Hasta grubundaki nötrofil/lenfosit oranının yüksekliği ile neopterin seviyelerinin yüksekliğinin birbirini desteklediğini düşünmekteyiz.

Genel olarak sonuçlarımız ışığında düşük AMH seviyelerinin ovaryan rezervin hızlı tükenmesine ve kaliteli oositlerin azalması ile bu oositlerin seçiminde bozukluk meydana getirerek etki etmesi aynı zamanda henüz bilmediğimiz enfektif enflamatuvar süreçlerin de bu süreçte rol aldığını düşünmekteyiz. Yapılan bir çalışmada kronik pelvik inflamasyonun ovaryan rezerv azlığına ve düşük AMH seviyelerine neden olduğu gösterilmiştir (193). Bu çalışma ile uyumlu olarak hasta grubundaki yüksek neopterin seviyeleri ve nötrofil/lenfosit oranı olması ışığında bu hastalardaki AMH düşüklüğünün enflamasyona sekonder olarak olabileceğide düşünmekteyiz.

Tekrarlayan gebelik kaybında daha önceden neopterin ve AMH seviyelerinin değerlendirildiği bir çalışma olmadığı için sonuçlarımızı kıyaslayabileceğimiz bir veri bulunmamaktadır. Bu durum bizim çalışmamızda elde ettiğimiz verilerin kesinliğini

tam olarak bilememize sebep olmaktadır ve ancak bu konu ile ilgili daha sonra yapılacak çalışmalardan çıkacak sonuçlar ile sonuçlarımızın kesinliği anlaşılacaktır.

İki ve ikiden fazla abortusu olan hastaların NP düzeylerine baktığımızda ikiden fazla abortusu olanların neopterin seviyesinin daha yüksek olduğunu ancak bu farkın anlamlı olmadığını görmekteyiz. Bu sonucun daha fazla hasta içeren çalışmalarda tekrar incelenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Daha öncede belirttiğimiz gibi tekrarlayan gebelik kayıpları ve NP arasındaki bağlantıyı araştıran başka bir çalışma olmadığı için diğer çalışmalarla kıyaslayamadık. Ancak Sapmaz ve arkadaşları preeklampsi tanısı konmuş gebelerle benzer gebelik haftasındaki sağlıklı gebelerin serum NP düzeylerini karşılaştırmış, hafif preeklampsi grubu hariç, neopterin düzeyleri hem sağlıklı gebelere göre hem de kendi aralarında şiddetli preeklampsi ve eklampsi vakalarında artmaktadır (194). Bilindiği gibi normal gebeliklerde Th-2 ürünleri artış göstermektedir. Th-1'deki artış ise gebeliğin seyrini kötü yönde etkilemektedir. Th-1'deki artış missed abortus, spontan abortus, rekürren abortus, preeklampsi gibi sonuçlar doğurabilmektedir. Bu anlamda bizim yapmış olduğumuz çalışmamızın sonuçları ile Sapmaz ve arkadaşlarının yapmış olduğu bu çalışmanın sonuçları örtüşmektedir.

NP seviyesinin tekrarlayan gebelik kaybı olanlarda yüksek olması daha sonra yapılacak olan çalışmalar ile bu klinik durum için prediktif bir belirteç olarak kullanılabilir. Eğer bu molekülün yüksekliğine sebep olan nedenler daha iyi aydınlatılabilirse bu nedenlere yönelik yeni tedaviler geliştirilerek bu hastaların çocuk sahibi olmalarına yardımcı olunabilir.

AMH yüksekliğinin düşük over rezervi ile olan ilişkisi ve bizim çalışmamızda tekrarlayan gebelik kaybı olan hastaların daha düşük AMH seviyelerine sahip olmaları ışığında; gelecekte ovaryan rezervin hızlı tükenmesine neden olan faktörlerin daha iyi aydınlatılması ve buna yönelik alınacak önlemlerin artması ile AMH seviyesi düşük olan hastalar alacakları tedavi ile sporadik ve tekrarlayan düşüklerden korunabileceğini düşünmekteyiz.

Yine yakın zamanda birçok hastalık grubunda inflamatuvar süreçle ilgili neopterin gibi birçok yeni belirteçler bildirilmiştir. Nötrofil lenfosit oranı ve trombosit lenfosit oranı bunlardan ikisi olup basit bir hemogram testinden elde edilebilecek kolay ve ucuz bir yöntemdir (195). Bizde TKG yaşayan olgularda inflamatuvar bir sürecin oluştuğunu göz önünde bulundurarak nötrofil lenfosit oranı ile trombosit lenfosit oranını değerlendirdik. TKG yaşayan olgularda nötrofil lenfosit oranında anlamlı bir sonuç elde ettik. Bu çalışmada nötrofil lenfosit oranının inflamatuvar yanıtın basit bir belirteci olarak kullanılabileceği kanısına vardık.

Çalışmamızın limitasyonları ile ilgilide bazı eleştiriler yapmak istemekteyiz. Öncelikle üzerinde çalıştığımız hastalık olan tekrarlayan gebelik kaybı çok sık karşılaşılan bir klinik tablo olmamasının yanı sıra dışlama kriterlerimiz ile de birçok hastayı çalışma dışı bırakmamız ve her hastanın çalışmamızda gönüllü olmak istememesinin sonucu olarak hasta grubunda gönüllü sayımız 53 te kalmıştır. Eğer çalışmamızı daha fazla kişi üzerinde gerçekleştirebilseydik hem çalışmamızın gücünün artacağı hem de bazı anlamsız çıkan farkların istatistiksel açıdan anlam kazanabileceğini düşünmekteyiz.

Bu çalışmamız kesitsel bir çalışmadır. Bu çalışma vaka-kontrol çalışma olarak tasarlanıp belli sayıda gönüllüyü alıp, kan neopterin ve AMH seviyelerine bakılıp birkaç yıl sonra bu kişilerden tekrarlayan gebelik kaybı yaşayanları tesbit edecek şekilde tasarlanmış olsa idik ve neopterin seviyesi yüksek olan kişilerde daha fazla TKG izlense idi o zaman sonuçların daha güçlü olacağını düşünmekteyiz. Ancak bu çalışmamız bir tez çalışması olduğu için süre açısından vaka-kontrol yapmamız mümkün değildi. Bu konuyu daha sonra araştırarak olan yazarların çalışmayı bu şekilde tasrlamalarının daha doğru olacağını düşünmekteyiz.

Tekrarlayan gebelik kaybı olan bir hastanın yaşı ilerledikçe ovaryan rezervinin düşmesine bağlı olarak sonraki gebeliklerinde de abortus riskinin arttığı ve bu hastaların adeta bir kısır döngüye girdiğini düşünmekteyiz. Çalışmamızdaki bu sonuç bu duruma bağlanabilir ve bu da çalışmamızın bir diğer eksikliğidir. Daha sonraki çalışmalarda AMH düzeyi aynı yaş veya yaş grubundaki hastalarda bakılması bu molekülün over rezervi dışında tekrarlayan gebelik kaybına başka bir etkisi olup olmadığını göstermek açısından faydalı olabileceğini düşünmekteyiz. Bu

çalışmamızı bu şekilde tasarlayamamızın nedeni daha önce belirttiğimiz hasta bulmadaki zorluklardan dolayıdır.

Tekrarlayan gebelik kaybı olan hastaları incelediğimizde bugün için bilinen sebepler genetik, anatomik, endokrin, enfeksiyonlar, immünolojik, çevresel faktörler ve trombofilik nedenler olduğunu görmekteyiz. Bu nedenlerin olmadığı ancak tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda tedavi seçeneklerinin kısıtlı olması, tanı konulamaması nedeniyle hastaların hem psikolojik olarak hem sosyal açıdan baskı altında olduğunu düşünmekteyiz. Bu hastaların sonraki gebelikleri, ardı ardına düşük yapmaları nedeniyle tekrardan düşük yapacaklarını düşünmelerine ve önceki gebelik kayıplarının sebebi veya sebeplerinin aydınlatılamamasından dolayı tedavi alamadığı için yoğun bir stres altında geçmekte olduğu kanaatindeyiz. Eve sağlıklı bebek götüremeyen bu bayanların aile içi huzuru bozulmakta ve bazılarının evlilikleri son bulmaktadır.

Psikolojik ve ailesel açıdan bu etkileri olan tekrarlayan gebelik kaybının bir diğer yönü ise tanı konulamayan hastalarda sonraki gebeliklerde düşük molekül ağırlıklı heparin, düşük doz asetilsalilat gibi tedavilerin endikasyonsuz verilmesine neden olduğunu düşünmekteyiz. Bu durumun sağlık sistemine ekonomik bir yük getirmesi ülke ekonomisi açısından önemli bir sorundur. Bugün bildiğimiz nedenler ile açıklanamayan tekrarlayan gebelik kaybı olan hastaların patogenezlerinin aydınlatılması sayesinde yeni tedavi yöntemleri bulunmasıyla bu hastaların psikolojik ve sosyal baskılardan kurtulması sağlanabilir.

VI- SONUÇ VE ÖNERİLER

Kanaatimiz, çalışmamızda elde ettiğimiz hasta grubunda AMH'ın düşük olması ve düşük sayısı arttıkça AMH'ın daha düşük düzeylerde olması, ovaryan rezerv ile tekrarlayan gebelik kaybının ilişkisini açıkça ortaya koymakta olduğu ve yanı sıra düşük sayısı ikiden fazla olan grupta düşük sayısı iki olan gruba göre daha düşük AMH seviyeleride bu ilişkiyi kuvvetlendirmekte olduğudur.

NP seviyesinin hasta grubunda kontrollere göre yüksekliğinin ise tekrarlayan gebelik kaybının enflamatuvar bir süreçle ilişkisini göstermekte olduğunu düşünmekteyiz. Habitüel abortus yapan hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek saptanan NP düzeyleri, NP'nin hastalık aktivasyonu ve hücrel immüniteyi gösteren güvenilir bir biyomarker olduğunu göstermektedir. Ancak çalışmamızda abortus sayısı arttıkça serum NP düzeyleri arasında bir korelasyon saptayamadık. Bu konuda daha fazla olgu sayılı çalışmalar gerektiğini düşünmekteyiz.

Nötrofil/lenfosit oranının hasta grubunda daha yüksek olması enflamatuvar süreçle TGK ilişkisini kuvvetlendirdiğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda platelet lenfosit oranında abort yapan hasta grubu ve kontrol grubu arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır. Daha geniş hasta popülasyonunda yapılacak ve enflamasyonun diğer belirteçlerinin de içine alan prospektif çalışmalar platelet lenfosit oranının abortusla ilişkisini daha kesin bir şekilde ortaya koyacaktır.

TGK olan kadınların %50'sinden fazlasında doğru bir hasta değerlendirmesinden sonra somut bir kanıt bulunamamıştır. Bu hasta grubunda devam eden hayatlarında başarılı bir gebelik elde etmede uzun dönem prognozları iyidir. Açıklanamayan düşükleri olan bu hasta grubuna daha sonraki gebeliklerinde başarı elde edeceklerine dair psikolojik destek ve teşvik verilmelidir. TGK olan olgular antenatal dönemde yakın takiple kötü obstetrik sonuçlardan korunabilir.

İlerleyen yıllarda bu konuda çalışma yapacak olanlara önerimiz; çalışmayı vaka-kontrol çalışması şeklinde tasarlarmaları ve aynı yaş grubu üzerinde çalışmalarını veya dar bir yaş aralığında çalışmalarınıdır. Bu çalışmaların artması bizlere

tekrarlayan gebelik kaybının etyolojisinin daha iyi aydınlatılmasını ve yeni tedavi prensiplerinin ortaya konmasını sağlayacaktır.



KAYNAKLAR:

1. Beksaç S, Demir N, Koç A, Yüksel A: Erken gebelik problemleri ve düşükler. Obstetrik, Maternal – Fetal Tıp ve Perinatoloji, 1. baskı, Medikal&Nobel, Ankara, 2001, 1076-1085.
2. Carrington B, Sacks G, Regan L. Recurrent miscarriage: Pathophysiology and outcome. Curr Opin Obstet Gynecol 2005; 17:591-7.
3. Kujovich JL. Thrombophilia and pregnancy complications. Am J Obstet Gynecol 2004; 191:412-24.
4. Li TC, Makris M, Tomsu M, Tuckerman E, Laird S. Recurrent miscarriage: aetiology, management and prognosis. Hum Reprod Update 2002;8:463-481.
5. American College of Obstetricians and Gynecologists. Management of recurrent early pregnancy loss. ACOG Pract Bull 2001;24:1-8.
6. Buckett WM, Luckas MJM, Aird IA, Farquharson RG, Kingsland CR, Lewis-Jones DI. The hypo-osmotic swelling test in recurrent miscarriage. Fertil Steril 1997;68:506–9.
7. Kiefer D, Check JH, Katsoff D. Evidence that oligoasthenozoospermia may be an etiologic factor for spontaneous abortion after in vitro fertilization-embryo transfer. Fertil Steril 1997;68:545– 8.
8. Rubio C, Simon C, Blanco J, Vidal F, Minguez Y, Egozcue J, Crespo J, et al. Implications of sperm chromosome abnormalities in recurrent miscarriage. J Assist Reprod Genet 1999;16:253– 8.
9. Wilcox AJ, Weinberg CR, O'Conner JF, et al. Incidence of early loss of pregnancy. N Engl J Med 319:189 –94.
10. Gindoff PR, Schmidt PJ, Rubinow DR. Response to clomiphene citrate challenge test in normal women through perimenopause. Gynecol Obstet Invest 1997;43:186-91.

11. Trout SW, Seifer DB. Do women with unexplained recurrent pregnancy loss have higher day 3 serum FSH and estradiol values? *Fertil Steril* 2000; 74:335-7.
12. Woo HY, Kim KH, Rhee EJ, Park H, Lee MK. Differences of the association of anti-Müllerian hormone with clinical or biochemical characteristics between women with and without polycystic ovary syndrome. *Endocr J* 2012; 59(9): 781-90.
13. Hamerlinck FFV. Neopterin: a review. *Exp Dermatol* 1999; 8: 167–176
14. Murr C, Widner B, Wirleitner B and Fuchs D. Neopterin as a Marker for Immune System Activation. *Current Drug Metabolism*, 2002; 3:175-187.
15. Wachter H, Fuchs D, Hausen A et al. Neopterin as a marker for activation of cellular immunity: immunological basis and clinical application. *Adv Clin Chem* 1989; 27: 81-20.
16. Müller MM, Curtius HC, Herold M, Huber CH. Neopterin in Clinical Practice. *Clinical Chim Acta* 1991;201:1-16.
17. Fuchs D, Weiss G, Wachter H. Neopterin, biochemistry and clinical use as a marker for cellular immune reactions. *International Archives of Allergy and Immunology* 1993; 101: 16.
18. Fuchs D, Weiss G, Reibnegger G, Wachter H. The role of neopterin as a monitor of cellular immune activation in transplantation, inflammatory, infectious and malignant disease. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1992; 29:307-41.
19. Hoffmann G, Wirleitner B, Fuchs D. Potential role of immun system activation associated production of NP derivatives in humans. *Inflamm Res* 52: 313-321, 2003.
20. Balkanli-Kaplan P, Gucer F, Ali Yuce M. T-helper 2-cytokine levels in women with threatened abortion. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004 Jun 15; 114(2): 239-40.

21. Vassiliadis S, Ranella A, Papadimitriou L, Makrygiannakis A, Athanassakis I. Serum levels of pro- and anti-inflammatory cytokines in non-pregnant women, during pregnancy, labour and abortion. *Mediators Inflamm.* 1998; 7(2): 69-72.
22. Mallmann P, Mallmann R, Krebs D. Determination of tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) and interleukin 2 (IL 2) in women with idiopathic recurrent miscarriage. *Arch Gynecol Obstet.* 1991; 249(2): 73-8.
23. Darmochwal-Kolarz D, Leszczynska-Gorzalak B, Rolinski J, Oleszczuk J. T helper 1- and T helper 2-type cytokine imbalance in pregnant women with pre-eclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1999; 86(2): 165- 70.
24. Saito S, Sakai M, Sasaki Y, Tanebe K, Tsuda H, Michimata T. Quantitative analysis of peripheral blood Th0, Th1, Th2 and the Th1:Th2 cell ratio during normal human pregnancy and preeclampsia. *Clin Exp Immunol.* 1999; 117(3): 550- 5.
25. Atasü T, Şahmay Ş: Abortus. *Jinekoloji, Nobel, 2. Baskı, İstanbul, 2001, (37) 533-545*
26. Kişnişçi, Gökşin, Durukan, Üstay, Ayhan, Gürkan, Önderoğlu: Rekürren abortus. *Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi, 1.Baskı, Güneş Kitabevi, Ankara,1996,1312-1318*
27. Bick RL: Recurrent miscarriage syndrome and infertility caused by blood coagulation protein or platelet defects. *Hematol Oncol Clin North Am,14(5):1117-31, 2000.*
28. Yamada H, Sata F, Saijo Y, Kishi R, Minakami H. Genetic factors in fetal growth restriction and miscarriage. *Semin Thromb Hemost, 31(3):334-45, 2005.*
29. Sierra S, Stephenson M. Genetics of recurrent pregnancy loss: *Semin Reprod Med, 24(1):17-24, 2006.*

30. El-Sayed Zaki M, Goda H: Relevance of parvovirus B19, herpes simplex virus 2, and cytomegalovirus virologic markers in maternal serum for diagnosis of unexplained recurrent abortions. Arch Pathol Lab Med, 131(6):956-60, 2007.
31. Devi Wold AS, Pham N, Arici A: Anatomic factors in recurrent pregnancy loss. Semin Reprod Med, 24(1):25-32, 2006.
32. Yamaç G , Gürsoy R , Çakır N: Gebelik ve Hiperkoagülabilite. Gebelik ve Sistemik Hastalıklar . Medikal&Nobel,1. Baskı, İstanbul, 2002 , (20) : 277-291.
33. Jonathan SB, Eli YA, Paula AH: Reküran spontan erken gebelik kayıpları. Novak Jinekoloji, 12. Baskı, İzmit, 1998, 965-979.
34. Demirhan O, Tastemir D: Partial trisomy 1p due to paternal t(1;9) translocation in a family with recurrent miscarriages . Fertil Steril, 86(1):219.e15-9, 2006.
35. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss. Fertil Steril 2008;90:S60.
36. Salat-Baroux J. Recurrent spontaneous abortions. Reprod Nutr Dev 1988; 28:1555-68.
37. Kujovich JL. Thrombophilia and pregnancy complications. Am J Obstet Gynecol 2004; 191:412-24.
38. Kutteh WH. Recurrent pregnancy loss: An update. Curr Opin Obstet Gynecol 1999; 11:435-9
39. Clifford K, Rai R, Regan L. Future pregnancy outcome in unexplained recurrent first trimester miscarriage. Hum Reprod 1997; 12:387-9.
40. Laufer MR, Ecker JL, Hill JA. Pregnancy outcome following ultrasound-detected fetal cardiac activity in women with a history of multiple spontaneous abortions. J Soc Gynecol Investig 1994; 1:138-42.

41. Hassold T, Chiu D. Maternal age-specific rates of numerical chromosome abnormalities with special reference to trisomy. *Hum Genet* 1985;70:11.
42. Warburton D, Kline J, Stein Z, Strobino B. Cytogenetic abnormalities in spontaneous abortions of recognized conceptions. In: Porter IH ed. *Perinatal Genetics: Diagnosis and Treatment*. Academic Press, New York 1986, pp.133.
43. Dawood F, Farquharson R, Quenby S. Recurrent miscarriage. *Curr Obstet Gynaecol* 2004;14:247-253.
44. Simpson J. Causes of Fetal Wastage. *Clin Obstet Gynecol* 2007;50:10 30.
45. Williams Obstetrics, F. Gray Cunningham, Norman F.Gant, KennethJ. Leveno, Larry C. Gilstrap III, John C. Hauth, Katharine D.Wenstrom, McGraw-Hill, 2010
46. Byrne J and Ward K. Genetic factors in recurrent abortions. *Clin Obstet Gynecol* 1994;37:693-704.
47. Homer H, Li T, Cooke I. The septate uterus. A review of management and reproductive outcome. *Fertil Steril* 2000;73:1.
48. Raga F, Bauset C, Remohi J, Bonilla-Musoles F, Simon C, Pellicer A. Reproductive impact of congenital Mullerian anomalies. *Hum Reprod* 1997;12 (10):2277-2281
49. Maneschi F, Zupi E, Marconi D, Valli E, Romanini C, Mancuso S. Hysteroscopically detected asymptomatic mullarian anomalie. Prevalance and reproductive implications. *J Reprod Med* 1995;40(10):684-688
50. Porter T ve Scott J. Evidence-based care of recurrent miscarriage. *Best Prac Res Clin Obstet Gynaecol* 2005;19:85-101.
51. Propst AM, Hill JA: Anatomic factors associated with recurrent pregnancy loss. *Semin Reprod Med*, 18(4):341-50, 2000.

52. Grimbizis GF; Camus M, Tarlatzis BC, et al. Clinical implications of uterine malformations and hysteroscopic treatment results. *Hum Reprod Update* 2001;7:161-174
53. Goldenberg M, Sivan E, Sharabi Z, et al. Outcome of hysteroscopic resection of submucous myomas for infertility. *Fertil Steril* 1995;64:714.
54. Patton P, Novy MJ. Reproductive potential of the anomalous uterus. *Semin Reprod Endocrinol* 1988;6:217.
55. Al-Inany H. Intrauterin adhesions. An update. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2001;80:986.
56. Drakeley AJ, Roberts D, Afirevic Z. Cervical stitch (cerclage) for preventing pregnancy loss in women. *The Cochrane Library* 2003;4.
57. Arredondo F, Noble LS. Endocrinology of recurrent pregnancy loss. *Semin Reprod Med.* 2006 Feb;24(1):33-9. Review. PubMed PMID: 16418976
58. Abalovich M, Gutierrez S, Alcaraz G, et al. Overt and subclinic hypothyroidism complicating pregnancy. *Thyroid* 2002;12:63.
59. Coulam C and Stern J. Endocrine factors associated with recurrent spontaneous abortion. *Clin Obstet Gynecol* 1994;37:730-744.
60. Miodovnik M, Skillman C, Holroyde J. Elevated maternal glycohemoglobin in early pregnancy and spontaneous abortion among insulin-dependent diabetic women. *Am J Obstet Gynecol* 1985;153:439-442.
61. Okon M, Laird S, Tuckerman E, Li T. Serum androgen levels in women who have recurrent miscarriages and their correlation with markers of endometrial function. *Fertil Steril* 1998;69:682-690.

62. Haas DM, Ramsey PS. Progestogen for preventing miscarriage. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013 Oct 31;(10):CD003511. doi: 10.1002/14651858.CD003511.pub3. Review. PubMed PMID: 24173668
63. Daya S. Evidence-based management of recurrent miscarriage: optimal diagnostic protocol. *International Congress Series* 2004;1266:318-327.
64. Hirahara F, Andoh N, Sawai K, Hirabuki T, Uemura T, Minaguchi H. Hyperprolactinemic recurrent miscarriage and results of randomized bromocriptine treatment trials. *Fertil Steril.* 1998 Aug;70(2):246-52. PubMed PMID: 9696215.
65. ACOG practice bulletin. Management of recurrent pregnancy loss. Number 24, February 2001 (Replaces Technical Bulletin Number 212, September 1995). American College of Obstetricians and Gynecologists. *Int J Gynaecol Obstet* 2002; 78:179-90.
66. Jauniaux E, Burton G. Pathophysiology of Histological Changes in Early Pregnancy Loss. *Placenta* 2005;26:114-123.
67. Kurki T, Sivonen A, Renkonen OV, Savia E, Ylikorkala O. Bacterial vaginosis in early pregnancy and pregnancy outcome. *Obstet Gynecol.* 1992 Aug;80(2):173-7. PubMed PMID: 1635726.
68. Hillier SL, Martius J, Krohn M, Kiviat N, Holmes KK, Eschenbach DA. A case-control study of chorioamnionic infection and histologic chorioamnionitis in prematurity. *N Engl J Med.* 1988 Oct 13;319(15):972-8. PubMed PMID: 3262199.
69. Laird S, Tukerman EM, Cork B, et al. A review of immune cells and molecules in women with recurrent miscarriage. *Hum Reprod Update* 2003;9:163-174.
70. Clifford K, Flanagan AM, Regan L. Endometrial CD56+ natural killer cells in women with recurrent miscarriage: a histomorphometric study. *Hum Reprod* 1999; 14:2727-30

71. Michou VI, Kanavaros P, Athanassiou V, Chronis GB, Stabamas S, Tsilivakos V. Fraction of the peripheral blood concentration of CD56+/CD16-/CD3- cells in total natural killer cells as an indication of fertility and infertility. *Fertil Steril* 2003; 80(Suppl 2):691-7.
72. Askelund K, Liddell HS, Zanderigo AM, et al. CD83(+) dendritic cells in the decidua of women with recurrent miscarriage and normal pregnancy. *Placenta* 2004; 25:140-5.
73. Prigoshin N, Tambutti M, Larriba J, Gogorza S, Testa R. Cytokine gene polymorphisms in recurrent pregnancy loss of unknown cause. *Am J Reprod Immunol* 2004; 52:36-41.
74. Kilpatrick DC, Bevan BH, Liston WA. Association between mannan binding protein deficiency and recurrent miscarriage. *Hum Reprod* 1995; 10:2501-5.
75. Christiansen OB, Ring M, Rosgaard A, Grunnet N, Gluud C. Association between HLA-DR1 and -DR3 antigens and unexplained repeated miscarriage. *Hum Reprod Update* 1999; 5:249-55.
76. Xu L, Chang V, Murphy A, et al. Antinuclear antibodies in sera of patients with recurrent pregnancy wastage. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163:1493-7.
77. Armstrong B, McDonald A, Sloan M. Cigarette, alcohol, and coffee consumption and spontaneous abortion. *Am J Public Health* 1992;82:85.
78. Harlap S, Shiono PH. Alcohol, smoking, and incidence of spontaneous abortions in the first and second trimester. *Lancet* 1980;173.
79. Gardella J, Hill J. Environmental toxins associated with recurrent pregnancy loss. *Semin Reprod Med* 2000;18:407.
80. Pabinger I. Thrombophilia and its impact on pregnancy. *Thromb Res* 2009;123 Suppl 3:S16-21.

81. Sood R. Thrombophilia and fetal loss: Lessons from gene targeting in mice. *Thromb Res* 2009;123 (Suppl. 2):S79-84
82. Clarke P, Brennand J, Conkie JA, McCall F, Greer IA, Walker ID. Activated protein C sensitivity, protein C, protein S and coagulation in normal pregnancy. *Thromb Haemost* 1998; 79: 1166-70.
83. Halligan A, Bonnar J, Sheppard B. Haemostatic, fibrinolytic and endothelial variables in normal pregnancies and pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1994; 101: 488
84. Rey E, Kahn SR, David M, Shier I. Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis. *Lancet* 2003; 361(9361): 901-8.
85. Saring G, Hoffman R, Younis J. Thrombophilia is common in women with pregnancy loss and is associated with the late pregnancy wastage. *Fertil Steril* 2002; 77(2): 342-7.
86. Martinelli I, Taioli E, Cetin I. Mutations in coagulation factors in women with unexplained late fetal loss. *N Engl J Med* 2000; 343(14): 1015-8.
87. Robertson B ve Greaves M. Antiphospholipid syndrome: An evolving story. *Blood Reviews* 2006;20:201-212.
88. Francis J, Rai R, Sebire NJ. Impaired expression of endometrial differentiation markers and complement regulatory proteins in patients with recurrent pregnancy loss associated with antiphospholipid syndrome. *Mol Hum Reprod*, 12(7): 435-42, 2006.
89. Chamley LW, Duncalf AM, Mitchell MD, Johnson PM. Action of anticardiolipin and antibodies to beta2-glycoprotein- I on trophoblast proliferation as a mechanism for fetal death. *Lancet* 1998; 352:1037-8.
90. Bertolaccini ML, Khamashta MA: Laboratory diagnosis and management challenges in the antiphospholipid syndrome. *Lupus*, 15(3):172-8, 2006.

91. Miyakis S, Loekshin MD, Atsumi T, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost* 2006;4:295-306.
92. Silver RM, Porter TF, van Leeuwen I, et al. Anticardiolipin antibodies: Clinical consequences of low titers. *Obstet Gynecol* 1996; 87: 494-500
93. Girling J, de Swiet M. Inherited thrombophilia and pregnancy. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1998; 10: 135-44.
94. Preston FE, Rosendaal FR, Walker ID. Increased fetal loss in women with heritable thrombophilia. *Lancet* 1996; 348: 913-6.
95. Lindoff C, Ingermarsson I, Martinsson G. Preeclampsia is associated with a reduced response to activated protein C. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 176: 457-60
96. Dahlback B. The protein C anticoagulant system: Inherited defects as basis for venous thrombosis. *Thromb Res* 1995; 77: 1.
97. Ohlin AK, Marlar RA. The first mutation identified in the thrombomodulin gene in a 45-year-old man presenting with thromboembolic disease. *Blood* 1995; 85: 330-7.
98. Faught W, Garner PJ, Jones G, Ivey B. Changes in protein C protein S levels in normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 72: 147-50.
99. Franco RF, Reitsma PH. Genetic risk factors of venous thrombosis. *Hum Gen* 2001; 109: 369–384.
100. Tharakan T, Baxi LV, Diuguid D. Protein S deficiency in pregnancy: A case report. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168: 141.

101. Francis J, Rai R, Sebire NJ. Impaired expression of endometrial differentiation markers and complement regulatory proteins in patients with recurrent pregnancy loss associated with antiphospholipid syndrome. *Mol Hum Reprod*, 12(7): 435-42, 2006.
102. Briet E, Broekmans AW, Engesser L. Hereditary protein S deficiency. In: Bertina RM ed. *protein C and related proteins*. Edinburgh, UK, Churchill Livingstone, 1988;203.
103. Laffan M, Tuddenham E. Inherited thrombophilias. *Q J Med* 1997; 90: 375-8.
104. Kobayashi T. Antithrombin abnormalities and perinatal management. *Curr Drug Targets*. 2005 Aug; 6(5): 559-66.
105. Tait RC, Walker ID, Perry DC. Prevalence of antithrombin deficiency in the healthy population. *Br J Haematol* 1994; 87: 106-12.
106. Macik B, Ortel T. Clinical and laboratory evaluation of the hypercoagulable states. *Clin Chest Med* 1995; 16: 375-87.
107. Samama M, Gerotziapas G, Conard J. Clinical aspects and laboratory problems in hereditary thrombophilia. *Haemostasis* 1999; 29: 76–99.
108. Bertina RM, Koeleman BP, Koster T. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994; 371: 364-369.
109. Özbek U, Tangün Y. Frequency of factor V Leiden (Arg506Gln) in Turkey. *Br J Haematol* 1997; 97: 504-5.
110. Creinin D, Lisman R, Strickler C. Screening for Factor V Leiden mutation before prescribing combination oral contraceptives. *Am Soc Reprod Med* 1999; 72: 646- 651.

111. Rai R, Shlebak A, Cohen H, et al. Factor V Leiden and acquired activated protein C resistance among 1000 women with recurrent miscarriage. *Hum Reprod* 2001; 16:961-5
112. Lynette A. Factor V Leiden. *J Perinat Neonat Nurs* 2003; 17: 190-195.
113. DeGroot Christine JM, Bloemenkamp Kitty WM. Preeclampsia and genetic risk factors for thrombosis: a case- control study. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181: 975-980.
114. Younis JS. Thrombophilia and recurrent fetal loss-related? *Fertil Steril* 2000; 73: 652-654.
115. Younis JS, Brenner B, Ohel G. Activated protein C resistance due to factor V leiden mutation can be associated with first as well as second trimester recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol* 2000; 43: 31-35.
116. Gerhardt A, Scharf R, Beckmann M et al: Prothrombin and factor V mutations in women with a history of thrombosis during pregnancy and the puerperium. *N Engl J Med*, 342:374-380, 2000.
117. Atasay B, Aslan S, Günlemez A, Kemahli S, Akar N. Factor V Leiden and Prothrombin gene 20210A variant in neonatal thromboembolism and in healthy neonates and adults. *Pediatric Hematology and Oncology* 2003; 20: 627-634.
118. Akar N, Mısırlıoğlu M, Akar E. Prothrombin gene 20210 G-A mutation in Turkish population. *Am J Hematol* 1998; 58: 249.
119. Ayyıldız O, Kalkanlı S, Batun S. Prothrombin G20210A gene mutation with lightcycler polymerase chain reaction in venous thrombosis and healthy population in southeast of Turkey. *Heart Vessels* 2004; 19: 164.

120. Karakus Z. Venöz trombozlu, myokard infarktüsülü ve serebral infarktüsülü genç hastalarda kalıtsal trombofilik faktörlerin değerlendirilmesi, Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana, 2003.

121. Kupherminc MJ, Peri H, Zwang E, Yaron Y, Wolman I, Eldor A. High prevalence of the prothrombin gene mutation in women with intrauterine growth retardation, abruptio placenta, and second trimester loss. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2000; 79(11): 963-7.

122) Haliloğlu B. Açıklanamayan tek bir 3. trimester fetal kayıp olgularında Faktör V Leiden ve protrombin gen mutasyonunun yeri. Uzmanlık tezi, Zeynep Kamil Kadın Hastalıkları ve Çocuk Hastanesi, Ankara 2004.

123. Nelen WL, Blom HJ, Steegers EA, den Heijer M, Eskes TK. Hyperhomocysteinemia and recurrent early pregnancy loss: a meta-analysis. *Fertil Steril*. 2000 Dec;74(6):1196-9. PubMed PMID: 11119750

124. Ray JG, Laskin CA. Folic acid and homocysteine metabolic defects and the risk of placental abruption, pre-eclampsia and spontaneous pregnancy loss. *Placenta* 1999;20:519-529.

125. Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, Ellison RC, Eckfeldt JH, Rosenberg IH, Selhub J, Rozen R. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation*. 1996 Jan 1;93(1):7-9. PubMed PMID: 8616944

126. van der Molen EF, Verbruggen B, Novakova I, Eskes TK, Monnens LA, Blom HJ. Hyperhomocysteinemia and other thrombotic risk factors in women with placental vasculopathy. *Bjog* 2000; 107:785-91.

127. Kluijtmans LAJ, van den Heuvel LP, Boers J. Molecular genetic analysis in mild hyperhomocysteinemia: a common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is a genetic risk factor for cardiovascular disease. *Am J Hum Genet* 1996; 58: 35– 41.

128. Goyette P, Sumner JS, Milos R, Duncan AM, Rosenblatt DS, Matthews RG, Rozen R. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification. *Nature Genetics* 1994; 7: 195-200.
129. Kuttah WH, Park VM, Deitcher SR. Hypercoagulable state mutation analysis in white patients with early first- trimester recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 1998; 71: 1048-1053.
130. Broekmans FJ, Soules MR and Fauser BC. Ovarian Aging: Mechanisms and Clinical Consequences. *Endocrine Reviews* 2009; 30(5): 465-93.
131. Hansen KR, Knowlton NS, Thyer AC, Charleston JS, Soules MR, Klein NA. A new model of reproductive aging: the decline in ovarian non-growing follicle number from birth to menopause. *Hum Reprod* 2008; 23(3): 699-708.
132. Doğan DG, Berker B. Over rezervinin değerlendirilmesi (Evaluation of ovarian reserve). *Turkiye Klinikleri J Gynecol Obst* 2008;18(4):254-65.
133. van Disseldorp J, Lambalk CB, Kwee J, Looman CW, Eijkemans MJ, Fauser BC, Broekmans FJ. Comparison of inter- and intra-cycle variability of anti-Müllerian hormone and antral follicle counts. *Hum Reprod* 2010; 25: 221-7.
134. Kline J, Kinney A, Levin B, Warburton D. Trisomic pregnancy and earlier age at menopause. *Am J Hum Genet.* 2000 Aug;67(2):395-404. PubMed PMID: 10873791; PubMed Central PMCID: PMC1287186.
135. Cate, R.L., Mattaliano, R.J., Hession, C., Tizard, R., Farber, N M., Cheung, A ,et al. Isolation of the bovine and human genes for Müllerian inhibiting substance and expression of the human gene in animal cells. *Cell* 1986;45:685-98.
136. Wilson C, Di Clemente N, Ehrenfels C, Pepinsky R, Josso N, Vigier B, Cate R. Müllerian inhibiting substance requires its N-terminal domain for maintenance of biological-activity, a novel finding within the transforming growth-factor-beta superfamily. *Molecular Endocrinology* 1993; 7: 247-57.

137. La Marca A, Volpe A. Anti-Mullerian Hormone (AMH) in Female Reproduction: Is Measurement of Circulating AMH a Useful Tool? Clin Endocrinol 2006; 64(6): 603-10

138. Rey, R., Lukas-Croisier, C., Lasagna, C. & Bedecarrats, P. AMH/ MIS: what we know already about the gene, the protein and its regulation. Molecular and Cellular Endocrinology 2003;15:21- 31.

139. Teixeira, J., Maheswaran, S. & Donahoe, P.K. Müllerian inhibiting substance: an instructive developmental hormone with diagnostic and possible therapeutic applications. Endocrine Reviews 2001;22:657-74.

140. Anderson RA, Nelson SM, Wallace WH. Measuring anti-Mullerian hormone for the assessment of ovarian reserve: when and whom is it indicated? Maturitas 2012; 71(1): 28-33.

141. Josso N, Lamarre I, Picard JY, Berta P, Davies N, Morichon N, Peschanski M, Jeny R. Anti-mullerian hormone in early human development. Early Hum Dev 1993; 33(2): 91-9.

142. Rajpert E, Jorgensen N, Graem N, Muller J, Cate RL, et al. Expression of anti-Mullerian hormone during normal and pathological gonadal development: association with differentiation of Sertoli and granulosa cells. J Clin Endocrinol Metab 1999; 84: 3836-44.

143. Rajpert-De Meyts, E., Jorgensen, N., Graem, N., Müller, J., Cate, R.L., Skakkebaek, NE. Expression of anti-Müllerian hormone during normal and pathological gonadal development: association with differentiation of Sertoli and granulosa cells. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 1999; 84:3836-44.

144. Baarends, W.M., Uilenbroek, J.T., Kramer, P., Hoogerbrugge, J.W., vanLeeuwen, E.C., Themmen, A.P., et al. Anti-Müllerian hormone and anti-Müllerian hormone type II receptor messenger ribonucleic acid expression in rat ovaries

during postnatal development, the estrous cycle, and gonadotropin induced follicle growth. *Endocrinology*, 1995;136:4951-62.

145. Durlinger, AL., Gruijters, M.J., Kramer, P., Karels, B., Ingraham, HA., Nachtigal, M.W., et al. Anti-Müllerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. *Endocrinology* 2002;143:1076-84.

146. de Vet A, Laven JS, de Jong FH, Themmen APN, Fauser BC. Anti-Mullerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. *Fertil Steril* 2002;77:357–362

147. Lee, MM., Donahoe, P. K., Hasegawa, T., Silverman, B., Crist, G.B., Best, S., et al. Müllerian inhibiting substance in humans: normal levels from infancy to adulthood. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1996;81 :571-6.

148. Cook, CL., Siow, Y., Taylor, S., Falat, ME. Serum müllerian inhibiting substance levels during normal menstrual cycles. *Fertility and Sterility* 2000;73 :859-61.

149. La Marea, A., Malmusi, S., Giulini, S., Tamara, L.F., Orvieto, R., Levratti, P., et al. Anti-Müllerian hormone plasma levels in spontaneous menstrual cycle and during treatment with FSH to induce ovulation. *Human Reproduction* 2004;19:2738-41.

150. Long, W.Q., Ranchin, V., Pautier, P., Belville, C., Denizot, P., Cailla, H., et al. Detection of minimal levels of serum anti-Müllerian hormone during follow-up of patients with ovarian granulosa cell tumor by means of a highly sensitive enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2000;85:540-44

151. La Marea, A., De Leo, V., Giulini, S., Orvieto, R., Malmusi, S., Giannella, L., et al. Anti-Müllerian hormone in premenopausal women and after spontaneous or surgically induced menopause. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation* 2005;12:545-8.

152. Van Rooij, IA., Tonkelaar, I., Broekmans, F .J., Looman, C.W.,Schefferde, G.J., Jang, F .H .. Anti-Müllerian hormone is a promising predictor for the occurrence of the menopausal transition. *Menopause* 2004;11 :601-6.

153. Ledger WL. Clinical Utility of Measurement of Anti-Mullerian Hormone in Reproductive Endocrinology. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95(12): 5144-54.

154. The Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Fertil Steril* 2004; 81(1): 19-25.

155. Neagu M, Cristescu C. Anti-Müllerian hormone—a prognostic marker for metformin therapy efficiency in the treatment of women with infertility and polycystic ovary syndrome. *J Med Life* 2012; 15; 5(4): 462-4.

156. Pellat L, Hanna L, Brinmat M, Galea R, Brain H, Whitehead S, Granulosa cell production of anti- Müllerian hormone is increased in polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(1): 240-5.

157. Rey, RA., Belville, C., Nihoul-Fekete, C., Michel-Calemard, L., Forest, M.G., Lahlou, N., et al.Evaluation of gonadalfunction in 107 intersex patients by means of serum antimüllerian hormone measurement. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1999;84:627-31.

158. Lane, AH., Lee, M.M., Fuller, A.F. Jr, Kehas, DJ., Donahoe, P.K., MacLaughlin, D.T. Diagnostic utility of Müllerian inhibiting substance determination in patients with primary and recurrent granulosa cell tumors. *Gynecologic Oncology* 1999;73:51-5.

159. Tsepelidis S, Devreker F, Demeestere I, Flahaut A,Gervy Ch, Englert Y. Stable serum levels of anti- Müllerian hormone during the menstrual cycle: a prospectivestudy in normoovulatory women. *Hum Reprod* 2007; 22(7): 1837-40.

160. Berdowska A, Zwirska-Korczała K. Neopterin measurement in clinical diagnosis. *J Clin Pharm Ther* 2001;26(5):319-29.

161. Werner ER, Werner – Felmayer G, Fuchs D, et al. Biochemistry and function of pteridine synthesis in human and murine macrophages. *Pathobiology* 1991; 59:276-279.
162. Millner MM, Franthal W, Thalhammer GH, et al. Neopterin concentrations in cerebrospinal fluid and serum as an aid in differentiating central nervous system and peripheral infections in children. *Clinical Chemistry* 1998;44:161-167.
163. Baier-Bitterlich G, Fuchs D, Wachter H. Chronic immune stimulation, oxidative stress and apoptosis in HIV infection. *Biochem Pharmacol* 1997;53: 755–763
164. Weiss G, Widner B, Zoller H, Schobersberger W, Fuchs D. Immune response and iron metabolism. *British Journal of Anaesthesia* 1998; 81: 6-9
- 165 . Hausen A, Fuchs D, Reibnegger G. Neopterin in clinical use. *Pteridine* 1989;1:3-10.
166. Schennach H, Hessenberger G, Mayersbach P, Schonitzer D, Fuchs D. Acute cytomegalovirus infections in blood donors are indicated by increased serum neopterin concentrations. *Med Microbiol Immunol (Berl)* 2002; 191:115-8..
167. Reibnegger G, Auhuber I, Fuchs D, Hausen A, Judmaier G, Prior C et al. Urinary neopterin levels in acute viral hepatitis. *Hepatology* 1988; 8:771-4
168. Pascual C, Karzai W, Meier-Hellman A, et al. Total plasma antioxidant capacity is not always decreased in sepsis. *Critical Care Medicine* (1998),26,705-709.
169. Pagel H, Fandrey j, Schobesberger W, Fuchs D, Jelkmann W. Effects of neopterin and 7,8-dihydroneopterin on hypoxia-induced renal erythropoietin production. *European Journal of Haematological Oncology* 1999; 62: 341-345.

170. Murr Ch, Bergant A, Widschwendter M, Heim K, Schröcksnadel H, Fuchs D. Neopterin is an independent prognostic variable in females with breast cancer. *Clinical Chemistry* (1999), 45, 1998-2004.

171. Kronberger P, Weiss G, Tschmelitsch J, et al. Predictive value of urinary neopterin in patients with lung cancer. *European Journal Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry* 1995;33:831-837.

172. Reibnegger GJ, Bichler AH, Dapunt O, et al. Neopterin as a prognostic indicator in patients with carcinoma of the uterine cervix. *Cancer Research* 1986; 46:950-955.

173. Reibnegger G, Kranier M, Herold M, et al. Predictive value of interleukin-6 and neopterin in patients with multiple myeloma. *Cancer Research* 1991; 51: 6250-6253.

174. Yuksekol I, Ozkan M, Akgul O , Tozkoparan E, Al-Rashed M, Balkan A et al. Urinary neopterin measurement as a non-invasive diagnostic method in pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003; 7: 771-776.

175. Mohamed KH, Mobasher AA, Yousef AR, Salah A, El-Naggar IZ, Ghoneim AH, Light RW. BAL neopterin : A novel marker for cellmediated immunity in patients with pulmonary tuberculosis and lung cancer. *Chest* (Mar-2001),119(3):776-780.

176. Manes G, Spada OA, Rabitti PG, et all. Neopterin serum levels in pancreatic adenocarcinoma. *International Journal of Pancreatology* (1999), 25,31-37.

177. Zeimet AG, Widschwendter M, Knabbe C, et al. Ascitic interleukin-12 is an independent prognostic factor in ovarian cancer. *Journal of Clinical Oncology* (1998), 16, 1861-1868.

178. Weiss G, Kronberger P, Conrad F, Bodner E, Wachter H, Reibnegger G. Neopterin and prognosis in patients with adenocarcinoma of the colon. *Cancer Research* (1993), 53, 260-265.

179. Birk D, Gansauge S, Schwarz A, Berger HG. Levels of serum neopterin are increased in pancreatic cancer patients and correlate with the prognosis. *European Journal of Medical Research* (1999), 4, 156-160.
180. Touloumi G, Hatzakis A, Potouridou I, et al. The role of immunosuppression and immune-activation in classic Kaposi's sarcoma. *International Journal of Cancer* (1999), 82, 817-821
181. Schroecksnadel K, Murr C, Winkler C, Wirleitner B, Fuih LC, Fuchs D. Neopterin to monitor clinical pathologies involving interferon- γ production. *Pteridines* 2004;15(3):75-90
182. Schumacher M, Halwachs G, Tatzber F, et al. Increased neopterin in patients with chronic and acute coronary syndromes. *Journal of the American College of Cardiology* (1997), 30, 703-707.
183. Anwaar I, Gottsäter A, Lindgärde F, Mattiasson I. Increasing plasma neopterin and persistent plasma endothelin during follow-up after acute cerebral ischemia. *Angiology* (1999), 50,1-8.
184. Weiss MF, Rodby RA, Justice AC, Hricik DE. Free pentosidine and neopterin as marker of progression rate in diabetic nephropathy. *Kidney International* (1998), 54, 193-202.
185. Margreiter R, Fuchs D, Hausen A, et al. Neopterin as a new biochemical marker for diagnosis of allograft rejection. *Transplantation* (1983), 36, 650-653.
186. Hacini D, Guerin C, Berthoux P, Ville G, Berthoux F. Monitoring of the serum neopterin creatinine ratio in renal transplantation. *Transplantation Proceedings* (1987), 19, 2185-2186.
187. Bichler KH, Kleinknecht S, Strohmaier WL. Immune status and immune therapy of renal cell carcinoma. *Urol Int* 1990;45(5):269-83.

188. Radunovic N, Kuczynski E, Rebarber A, Nastic D, Lockwood CJ. Neopterin concentrations in fetal and maternal blood: a marker of cell-mediated immune activation. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1999; 181:170-173
189. Hofmann GE, Khoury J, Thie J. Recurrent pregnancy loss and diminished ovarian reserve. *Fertil Steril*. 2000 Dec;74(6):1192-5. PubMed PMID: 11119749.
190. Maroulis GB. Effect of aging on fertility and pregnancy. *Seminars Reprod Endocrinol* 1991;9:165-170
191. Levi AJ, Raynault MF, Bergh PA, Drews MR, Miller BT, Scott RT Jr. Reproductive outcome in patients with diminished ovarian reserve. *Fertil Steril*. 2001 Oct;76(4):666-9. PubMed PMID: 11591396.
192. Shim SH, Ha HI, Jung YW, Shim SS, Cho YK, Kim JY, Lee KJ, Cha DH, Kim SH, Park HJ. Maternal antimüllerian hormone as a predictor of fetal aneuploidy occurring in an early pregnancy loss. *Obstet Gynecol Sci*. 2015 Nov;58(6):494-500. doi: 10.5468/ogs.2015.58.6.494. PubMed PMID: 26623414; PubMed Central PMCID: PMC4663228.
193. Cui L, Sheng Y, Sun M, Hu J, Qin Y, Chen ZJ. Chronic Pelvic Inflammation Diminished Ovarian Reserve as Indicated by Serum Anti Müllerian Hormone. *PLoS One*. 2016 Jun 6;11(6):e0156130. doi: 10.1371/journal.pone.0156130. eCollection 2016. PubMed PMID: 27272680; PubMed Central PMCID: PMC4894572.
194. Sapmaz E, Bulut V, Çelik A, Akbulut H, İlhan N, Hanay Fethi. Preeklampsi Vakalarında Neopterin ve TNF-alfa Düzeylerinin İncelenmesi. *Turk J Obstet Gynecol* 2006; 3: 83-88.
195. Uslu AU, Küçük A, Şahin A, Ugan Y, Yılmaz R, Güngör T et al. Two new inflammatory markers associated with Disease Activity Score-28 in patients with rheumatoid arthritis: neutrophil-lymphocyte ratio and platelet-lymphocyte ratio. *Int J Rheum Dis*. 2015;18:731

