



**T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ**

**KOCAELİ ŞEHİR HASTANESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM KLİNİĞİ**

**İMLANTASYON DÖNEMİNDE HİPERGLİKOLİZE hCG'NİN İLK TRİMESTER
GEBELİK SONUÇLARINA ETKİSİ**

Dr. Erdem GÜRKAN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

KOCAELİ, 2024



**T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ**

**KOCAELİ ŞEHİR HASTANESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM KLİNİĞİ**

**İMLANTASYON DÖNEMİNDE HİPERGLİKOLİZE hCG'NİN İLK TRİMESTER
GEBELİK SONUÇLARINA ETKİSİ**

Dr. Erdem GÜRKAN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. İnan İlker ARIKAN

TEZ DANIŞMAN YARDIMCISI

Dr.Öğ.Üyesi Emre SERTEL

ETİK KURUL ONAY TARİHİ VE NO: 28.12.2023, 2023-19

KOCAELİ, 2024

İÇİNDEKİLER NO	SAYFA
1. GİRİŞ VE AMAÇ	5
2. GENEL BİLGİLER.....	7
2.1. EMBRİYOLOJİ.....	7
2.2. HUMAN KORYONİK GONADOTROPİN (hCG).....	9
2.2.1. Human Koryonik Gonadotropinin (hCG) Tanımı, Biyokimyası ve Metabolizasyonu.....	9
2.3. HİPERGLİKOLİZE HUMAN KORYONİK GONADOTROPİN (hCG-H).....	11
2.3.1. hCG-H'nin Yapısı, Sentezi, Fonksiyonu ve Klinik.....	11
2.3.2. Gebelik İmplantasyonunda hCG-H.....	13
2.4. İLK TRİMESTER GEBELİK KAYIPLARI.....	16
2.4.1. Biyokimyasal Gebelik.....	16
2.4.2. Anembriyonik Gebelik.....	16
2.4.3. Missed Abortus.....	17
2.4.4. Abortus İncipiens.....	17
2.4.5. Komplet Abortus.....	17
2.4.6. İnkompaket Abortus.....	18
2.4.7. Ektopik Gebelik.....	18
3. MATERYAL VE METOT	19
3.1 Çalışma Tasarımı.....	19
3.2 Çalışma Popülasyonu.....	19
3.3 Çalışma Protokolü.....	20
3.4 İstatistiksel Analiz.....	21
4. BULGULAR	22
5. TARTIŞMA	27
6. SONUÇ	29
7. KAYNAKÇA	31

ÖNSÖZ

Asistanlığım boyunca bilgi ve tecrübelerini paylaşan eğitimci kişiliği ve adalet duygusunu merhametiyle yoğurup eğitimimiz için her türlü fedakarlığı yapan saygıdeğer hocam, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Başkanımız ve eğitim sorumlumuz Sayın Dr.Öğr.Üyesi Arzu YAVUZ'a , uzmanlığından akademik hayatta ilerleyişine şahit olduğum akademik yönlendirmeleri ile ilk kitap bölümü yazmama vesile olan her türlü sıkıntımızda desteklerini esirgemeyen kıymetli hocam Dr.Öğr.Üyesi Emre SERTEL'e ;

Asistanlığımın ikinci yarısında tanıma fırsatı bulduğum, tez sürecinde akademik tecrübesiyle yoluma ışık olan tezimin her aşamasında büyük katkı sağlayan kendisinden akademik hayatımda da çok şey öğrendiğim kıymetli ve saygıdeğer hocam ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. İnan İlker ARIKAN'a;

Asistanlık sürecimde tecrübe, beceri ve bilgilerini bizlere aktarıp kliniğimizden ayrılan sayın hocalarım Prof. Dr. Hasan Terzi, Doç. Dr. Ünal Türkay, Doç. Dr. Bahar Astepe'ye;

Asistanlık sürecimde kliniğimizde olmamasına rağmen kendilerinden çok şey öğrendiğim ve her zaman eğitim için kapılarını sonuna kadar açık tutan Prof.Dr. Süleyman Salman hocama, akademik hayatım ve cerrahi nosyonum için çok çaba sarf eden ve güncel olan tüm bilgileri günlük pratiğimize hızlıca entegre edebilmemizi sağlayan çok kıymetli hocalarım Prof.Dr.Ozan Doğan ve Doç.Dr.Murat Yassa'ya sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalında görevli tüm uzman doktor ve asistan doktor arkadaşlarıma ve kendileriyle birer aile olmuş gibi hissettiğim tüm ebe, hemşire, tıbbi sekreter ve personellerimize içten teşekkürlerimi sunarım.

Tüm hayatım boyunca sevgi ve desteklerini daima yanımda hissettiğim, bugünlere gelmemde sonsuz emek, özveri ve fedakârlıkların sahibi canım aileme ve yaşamış olsaydı benimle gurur duyacağından emin olduğum babama, bir anne gibi her zaman yanımda olan sevgili halam Mesude Gürkan'a , baba yarısı olan bugüne kadar hiçbir şeyi esirgemeyen kıymetli abim Ethem Gürkan'a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

En kıymetli sona gelince tıp hayatımın en başından bugünlere kadar her türlü güzelliği ve zorluğu birlikte göğüslediğimiz, geceme gündüz olan sevgili eşim Merve

Dilli Gürkan'a ve 2023 yılının sonunda hayatımıza dahil olan en kıymetlimiz güzel kızımız Pera Gürkan'a her an yüzümüzde glmse oluşturarak motivasyon kaynağım olduğu için tüm içtenliğimle sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Dr. Erdem GÜRKAN



KISALTMALAR

hCG: Human Koryonik Gonadotropin

H-hCG: Hiperglikolize Human Koryonik Gonadotropin

TV-USG: Transvaginal Ultrasonografisi

IUG : İntrauterin Gebelikler

LH: Luteinize Edici Hormon

FSH: Folikül Uyarıcı Hormon

TSH: Tiroid Uyarıcı Hormon

TGF-beta : Dönüştürücü büyüme faktörü β

GS: Gestasyonel Kese

CRL: Crown-Rump Lenght

IVF: İn Vitro Fertilizasyon

YS: Yolk Kesesi

EAKA: Eğri Altında Kalan Alan

FKA: Fetal Kalp Atımı

GTN: Gestasyonel Trofoblastik Neoplazi

hCG: human Chorionic Gonadotropin

β -hCG: Beta-human Chorionic Gonadotropin

TABLULAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1: hCG Analizleri veya Hamilelik Testlerinde Önemli Keşifler 1930-1995.....	12
Tablo 2 : Hamilelik Sırasında hCG'nin Biyolojik Fonksiyonlar	16
Tablo 3 : Değişkenlere Göre Tanımlayıcı İstatistik Tablosu.....	25
Tablo 4 : Sağlıklı Gebeliği Olan ve Olmayan Hastaların Değişkenlerinin Karşılaştırılması...26	
Tablo 5 : ROC Tablosu (H-hCG).....	27
Tablo 6 : ROC Tablosu (H-hCG).....	28
Tablo 7 : Lojistik Regresyon Tablosu.....	29

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. Desiduaya nüfuz eden ekstrasvillöz sitotrofoblast hücrelerinin şematik gösterimi.....	11
Şekil2. Villöz plasental doku, sitotrofoblast ve sinsityotrofoblast hücreleri ve regüler hCG ve H- hCG fonksiyonu.....	15
Şekil3. Dördüncü gebelik haftasında blastokistin invazyonu.....	18
Şekil4. Anembriyonik Gebelik. Yolk kesesi içeren gebelik kesesini gösteren tek bir sonografik görüntü.....	20
Şekil 5. H-hCG Ölçümü İçin ROC Eğri Grafiği (Sağlıklı Gebeliği Olanlar).....	27
Şekil 6. Oran Ölçümü İçin ROC Eğri Grafiği (Sağlıklı Gebelik Olan).....	28

ÖZET

AMAÇ: H-hCG'nin birinci trimesterdeki düşük tehdidinde gebelik sonuçlarını öngörmedeki rolünü gebeliğin implantasyon döneminde serumda bakılan H-hCG değeri ile göstermek ve birinci trimester boyunca takip edilen sağlıklı ve sağlıksız seyreden gebeliklerin H-hCG değerlerini gebelik prognozlarıyla olan ilişkilerini karşılaştırmak.

GEREÇ VE YÖNTEMLER: Çalışmamız, Kocaeli Şehir Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, Kocaeli, Türkiye'de, tek merkezli "Prospektif gözlemsel" olarak Aralık 2023 – Şubat 2024 tarihleri arasında gerçekleştirildi. Çalışmaya Kocaeli Şehir Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 28/12/2023 tarihinde 2023-19 sayılı protokol numarası ile etik kurul onayı alındıktan sonra başlandı. Dahil edilme kriterlerini sağlayan her hastaya çalışma hakkında sözel ve yazılı bilgi verildi ve yazılı onam alındı. Çalışmaya toplamda 89 gebe katılım sağladı. Aktif şikayeti olmayan gebelik şüphesiyle kadın hastalıkları ve doğum polikliniklerimize başvuran hastalardan gebeliğin implantasyon döneminde olanlardan serumda H-hCG değeri bakıldı. Birinci trimester sonuna kadarki gebelik takipleri sonucunda çalışmamıza dahil olan 89 gebe iki gruba ayrılmış; sağlıklı seyredenler ile gebeliği sonlanmış olanların implantasyon döneminde bakılan H-hCG değerleri karşılaştırıldı. İstatistiksel analizler için SPSS 22.0 programı kullanıldı ve $P<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR: Sağlıklı gebeliği olan ve olmayan hastaların yaş, gebelik sayısı, parite, total hCG, H-hCG ve total hCG/ H-hCG oranı ölçümleri arasında anlamlı farklılık elde edilmiştir ($p<0.05$). Sağlıklı gebeliği olan hastaların yaş, gebelik sayısı ve parite değerlerinin ortalaması sağlıklı gebeliği olmayan hastalardan daha düşüktür. Sağlıklı gebeliği olan hastaların total hCG, H-hCG ve total hCG/ H-hCG oranı ölçümleri arasında anlamlı farklılık elde edilmiştir ($p<0.05$). Buna göre sağlıklı gebeliği olan hastaların total hCG, H-hCG ve total hCG/ H-hCG değerlerinin ortalaması sağlıklı gebeliği olmayan hastalardan daha yüksektir. Ancak sağlıklı gebeliği olan ve olmayan hastaların BMI, abort ölçümleri arasında anlamlı farklılık yoktur ($p>0.05$). Sağlıklı gebeliği olan hastalarda H-hCG ölçümü için ROC eğrisi altında kalan istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). Sağlıklı gebeliği olan grubunda H-hCG ölçümü için duyarlılık %80 ve özgüllük %81,1 olarak saptanmıştır. Sağlıklı gebeliği olan hastalarda oran ölçümü için ROC eğrisi altında kalan istatistiksel

olarak anlamlıdır ($p<0.05$). Sağlıklı gebeliği olan grubunda H-hCG ölçümü için duyarlılık %75,8 ve özgüllük %76,5 olarak saptanmıştır. Hastaların H-hCG ölçümlerinin sağlıklı gebelik grubunda olma durumlarına yönelik incelenen lojistik regresyon sonucu anlamlıdır ($\chi^2_{(1)}=11.336$, $p<0.001$). H-hCG ölçümlerinde 1 birimlik artış olduğunda hastaların sağlıklı gebelik grubunda olma olasılıklarını $[1.136-1*100]$ %13.6 daha yükseltir.

SONUÇ: Sağlıklı gebeliği olan hastaların total hCG, H-hCG ve total hCG/ H-hCG oranı ölçümleri arasında anlamlı farklılık elde edilmiştir ($p<0.05$). Buna göre yaptığımız çalışmada sağlıklı gebeliği olan hastaların total hCG, H-hCG ve total hCG/ H-hCG değerlerinin ortalaması sağlıklı gebeliği olmayan hastalardan daha yüksek çıkması H-hCG'nin gebelik prognozunda önemli bir belirteç olacağını düşündürmektedir.

ANAHTAR KELİMELER: Erken gebelik kaybı, H-hCG, β -hCG, implantasyon dönemi.

ABSTRACT

OBJECTIVE: To demonstrate the role of H-hCG in predicting pregnancy outcomes in threatened miscarriage in the first trimester, with the H-hCG value measured in serum during the implantation period of pregnancy, and to compare the H-hCG values of healthy and unhealthy pregnancies followed during the first trimester and their relationship with pregnancy prognoses.

MATERIALS AND METHODS: Our study was conducted as a single-center "Prospective observational" study at Kocaeli City Hospital, Gynecology and Obstetrics Clinic, Kocaeli, Turkey, between December 2023 and February 2024. The study was started after receiving ethics committee approval from Kocaeli City Hospital Clinical Research Ethics Committee on 28/12/2023 with protocol number 2023-19. Each patient who met the inclusion criteria was given verbal and written information about the study and written consent was obtained. A total of 89 pregnant women participated in the study. H-hCG level was measured in the serum of patients who had no active complaints and who applied to our gynecology and obstetrics outpatient clinics with suspicion of pregnancy and those who were in the implantation period of pregnancy. As a result of their pregnancy follow-up until the end of the first trimester, 89 pregnant women included in our study were divided into two groups; H-hCG values measured during the implantation period were compared between those whose pregnancies were healthy and those whose pregnancies were terminated. SPSS 22.0 program was used for statistical analysis and $P < 0.05$ was considered statistically significant.

RESULTS: A significant difference was found between age, number of pregnancies, parity, total hCG, H-hCG and total hCG/H-hCG ratio measurements of patients with and without healthy pregnancies ($p < 0.05$). The average age, number of pregnancies and parity values of patients with healthy pregnancies are lower than those of patients without healthy pregnancies. A significant difference was obtained between total hCG, H-hCG and total hCG/H-hCG ratio measurements of patients with healthy pregnancies ($p < 0.05$). Accordingly, the average total hCG, H-hCG and total hCG/H-hCG values of patients with healthy pregnancies are higher than those of patients without healthy pregnancies. However, there is no significant difference between BMI and abortion measurements between patients with and without healthy pregnancies ($p > 0.05$). The area under the ROC curve for H-hCG measurement in patients with healthy pregnancies is statistically

significant ($p < 0.05$). In the group with healthy pregnancies, the sensitivity for H-hCG measurement was found to be 80% and the specificity was 81.1%. The ratio under the ROC curve for ratio measurement in patients with healthy pregnancies is statistically significant ($p < 0.05$). In the group with healthy pregnancies, the sensitivity for H-hCG measurement was found to be 75.8% and the specificity was 76.5%. The logistic regression result examined for whether the H-hCG measurements of the patients were in the healthy pregnancy group was significant ($\chi^2(1) = 11.336$, $p < 0.001$). When there is a 1 unit increase in H-hCG measurements, the probability of patients being in the healthy pregnancy group increases by 13.6% [$1.136 - 1 * 100$].

CONCLUSIONS: A significant difference was obtained between total hCG, H-hCG and total hCG/H-hCG ratio measurements of patients with healthy pregnancies ($p < 0.05$). Accordingly, in our study, the average total hCG, H-hCG and total hCG/H-hCG values of patients with healthy pregnancies were higher than those of patients without healthy pregnancies, suggesting that H-hCG will be an important indicator of pregnancy prognosis.

KEYWORDS: Early pregnancy loss, H-hCG, β -hCG, implantation period.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Serum beta insan koryonik gonadotropin (b-hCG) en duyarlı gebelik testidir ve ovulasyondan 6 ila 12 gün sonra pozitif hale gelir. Ancak tek bir pozitif b-hCG değeri, gebeliğin yerini, morfolojisini ve potansiyel sonucunu değerlendirmez. Ultrason , doğruluğu, düşük maliyeti, güvenli ve rahat ulaşılabilir olması nedeniyle erken gebeliklerin tespiti ve değerlendirilmesi için tercih edilen görüntüleme yöntemidir. Erken birinci trimester intrauterin gebeliğin sonografik olarak doğrulanması, intrauterin gebelik kesesinin tespitine dayanır. Gebelik kesesi tipik olarak desidualize endometriyum içinde küçük yuvarlak veya oval bir sıvı topluluğu olarak görünür ve ultrasonda 4 ila 5. gebelik haftaları kadar erken bir zamanda görülebilir.(1)

Gebeliğin varlığı rutin olarak gebelik şüphesiyle başvuran hastalardan alınan kanda beta hCG değeri ile değerlendirilir. Beta hCG pozitifliği görüldüğünde transvaginal ultrasonografisi (TV-USG) ile gebeliğin implante olduğu lokasyon belirlenmelidir. TV-USG'de görüntülenemeyecek kadar küçük olan intrauterin gebelikler (IUG), yeri belli olmayan gebeliklerin yaklaşık %33'ünü oluşturur(2). TV-USG ile IUG belirlenmesi, heterotopik gebeliğin haricinde ektopik ektopik gebeliğin dışlanmasını sağlamaktadır. Gebeliğin takiplerinde canlılığın belirlenmesi ilk ve en önemli aşamadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde birinci trimester gebelik kaybının öngörülebilirliği %13,5 ile %30 arasında değişmektedir.(3) Gebelik kayıplarının %85'inin birinci trimesterde meydana geldiği tahmin edilmektedir.(4) Gebeliklerin düşük ile sonuçlanmasının tek bir nedeni bulunamamıştır. Bazı yazarlar düşüklerin üçte birinin kromozom anormalliklerinden, gebelik başarısızlıklarının üçte ikisinin ise embriyonun yanlış implantasyonundan kaynaklandığını belirtmektedir.(5)

Hiperglikozile edilmiş hCG (H-hCG), sentez yeri moleküler yapı ve fonksiyon açısından hCG'den farklı olan hCG'nin bir varyant formudur.(6) H-hCG, otokrin tarzda plasental ekstravillöz sitotrofoblast hücrelerinden kaynaklanır ve hCG'den daha karmaşık bir yapıya sahiptir.(7) H-hCG, gebeliğin ilk haftalarında hCG'nin baskın izoformdur. İmplantasyondan sonraki haftada üretilen hCG'nin %80'ini temsil eder, üçüncü gebelik haftasındaki toplam hCG'nin %92'sini oluşturur ve yavaş yavaş diğer izoformların yerini alır.(8) Gebeliğin erken döneminde H-hCG'nin varlığı, implantasyon süreci ve trofoblast hücrelerinin invazyonu ile ilişkilidir.(9) H-hCG'nin TGF beta reseptör II'yi antagonize ederek hücrel regülasyonu engellediği, sitotrofoblastik hücrelerde apoptozu azalttığı, sitotrofoblasttaki hücrelerin büyümesini ve invazyonunu teşvik ettiği gösterilmiştir.(10) Düşük ile sonuçlanan gebeliklerde H-hCG oranlarının çok az seviyelerde olduğu bazı çalışmalarda gösterilirken H-hCG değerlerindeki dengesizlikler gebelik başarısızlığının bir göstergesi olabilir.(11) Bununla birlikte, H-hCG'nin birinci trimesterdeki düşük tehdidinde gebelik sonuçlarını öngörmedeki rolüne ilişkin kanıtlar hala yetersizdir. Biz bu çalışmada, implantasyon dönemindeki H-hCG değerinin birinci trimester gebelik sonuçlarını tahmin edebileceğini varsaydık.

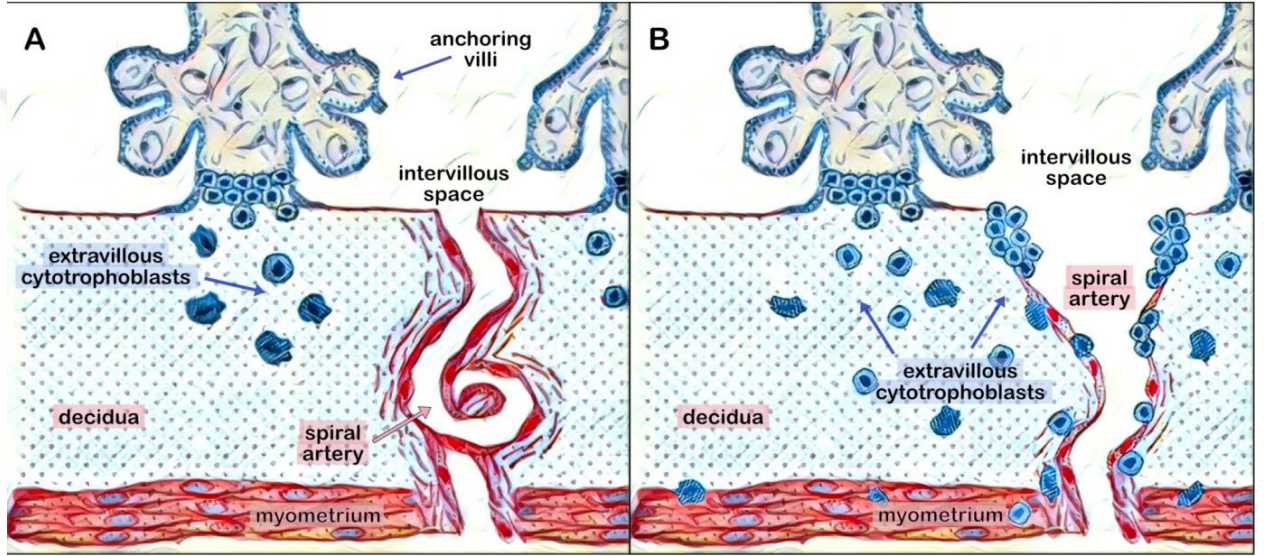
2. GENEL BİLGİLER

2.1. EMBRİYOLOJİ

Son zamanlarda insanın erken embriyonik gelişiminin incelenmesine ilgi yeniden arttı. Blastosistleri in vitro ortamda uzun süre muhafaza etmek için iyileştirilmiş kültür koşullarının ortaya çıkışı ve blastosist ve peri-implantasyon embriyolarının kök hücre bazlı modellerinin ortaya çıkması, erken insan embriyogenezi ile ilgili yeni bilgiler sağlamıştır. Ancak soy gelişiminin ve embriyonik modellemenin mekanizması ve bunların düzenlenmesinde yer alan moleküler yollar hala tam olarak anlaşılammıştır. Son zamanlarda çok sayıda teknik ilerleme göz önüne alındığında, insanın embriyonik gelişimine olan ilgi yeniden canlanmıştır.(12)

Fertilizasyon; tuba uterinaların en uzun ve geniş parçası olan ampulla'da gerçekleşir. Fertilizasyonun meydana gelmesi ile zigotun yarıklanması ve blastokist oluşumu meydana gelir. Morulanın uterusu girmesinin (fertilizasyondan yaklaşık 4 gün sonra) hemen ardından uterus sıvısı zona pellusidanın içerisine girerek morulanın içerisinde içi sıvı dolu bir boşluk olan blastokist boşluğunu oluşturur. Plasentanın embriyonik bölümünü oluşturan; dış kısımdaki ince hücelere trofoblast, merkezde ise ilerde embriyoyu geliştirecek olan embriyoblast bulunur. Bu evredeki embriyo blastokist adını alır. Fertilizasyonu takip eden yaklaşık 6. Günde blastokist endometriyum epiteline tutunur. Böylece, blastokist luteal fazın 6. Gününde implantasyona başlamış olur. Epitele tutunmasıyla birlikte trofoblastlar çoğalır ve iki farklı hücre tabakasına farklılar: sitotrofoblastlar(iç kısımda bulunan) ve sinsityotrofoblast(dış kısımda; hücrelerin füzyonu sonucu ortaya çıkan çok çekirdekli yapı) . Sinsityotrofoblastların parmaksı çıkıntıları endometriyum epiteline yayılır ve endometriyumun bağ dokusuna kadar ilerler. Birinci haftanın sonunda blastokist endometriyumun kompakt tabakasına yüzeyel olarak implante olmuştur ve besin ihtiyacını aşındırdığı maternal dokudan karşılar.(Şekil-1) Oldukça invaziv olan sinsityotrofoblastlar embriyoblast çevresinde hızla genişleyerek embriyonik kutbu oluştururlar. Sinsityotrofoblastlar maternal dokuları aşındıran proteolitik enzimler üretirler ve böylelikle blastokistin endometriyuma gömülmesine olanak sağlarlar. Gömülmekte olan sinsityotrofoblastlara komşu desidial hücreler dejenerasyona uğrarlar. Sinsityotrofoblast bu dejenere olan hücreleri içine alarak embriyonik beslenme için zengin bir kaynak yaratmaktadır. Blastokist implante oldukça daha fazla sayıda trofoblast, endometriyum ile temasa geçer ve iki tabakaya farklılaşma devam eder. Mitotik olarak aktif formdaki mononükleer hücrelerin bir katmanı olan sitotrofoblast, sürekli büyüyen sinsityotrofoblast kütlesi içine göç edip birbirleri ile

kaynaşarak hücre membranlarını kaybeden yeni trofoblastik hücreleri oluşturur. Sinsityotrofoblast, hücre sınırlarının seçilemediği ve hızla genişleyen multinükleer bir kitledir. Sinsityotrofoblast, sinsityotrofoblastik lakünalar içinde bulunan anne kanına geçen hCG hormonu sentezler. hCG gebelik boyunca overdeki korpus luteumun endokrin aktivitesini korur ve gebelik testlerinin temelini oluşturur.(13)



Şekil1. Desiduaya nüfuz eden ekstravillöz sitotrofoblast hücrelerinin şematik gösterimi ; Doğumun ilk haftalarından itibaren miyometriyuma kadar uzanan ve uterus spiral arterlerine infiltre olan Hamilelik (A); arterlerin normal yeniden şekillenmesi tamamlanana kadar (B).(14)

2.2. HUMAN KORYONİK GONADOTROPİN (hCG)

2.2.1. Human Koryonik Gonadotropinin (hCG) Tanımı, Biyokimyası ve Metabolizasyonu

hCG insanlardaki en asitli protein olarak birbirine non-kovalent bağlanmış iki alt üniteden meydana gelir. 14bin dalton ağırlığında ve 92 aminoasitten(a.a) oluşan alfa subünitesi LH,TSH,FSH alfa alt üniteleri ile benzerdir. 24 bin dalton ağırlığında 145 a.a'ten oluşan beta subünitesi hormona özgü antijenik özellik taşıyarak farkı oluşturan subünitedir. Beta hCG'nin 6. Kromozom üzerinde bulunan gen hCG, TSH,FSH, LH alfa subünitelerini kodlarken 19. kromozomun 6 farklı bölgesi tarafından hCG'nin β -subüniti kodlanır.(15)

Tablo1. hCG analizleri veya hamilelik testlerinde önemli keşifler 1930-1995(16)

Yayın Yılı	Tanım	Yazarlar
1930	İlk hamilelik testi, Zondek-Aschein Gebelik Testi	Zondek B, Aschein S
1960	İlk immünolojik gebelik testi, bir antikor aglütinasyon testi	Wide L, Gemzell CA
1967	İlk hCG radyoimmünoassay	Aono T, Goldstein DP, Taymor ML, Dolch K
1972	hCG β radyoimmünoanalizinin keşfi, test yalnızca hCG'yi tespit eder	Vaitukaitis JL, Braunstein GD, Ross GF
1984	İlk hCG radyo-immünometri testi	Armstrong EG, Ehrlich PH, Birken S, Schlatterer JP, Siris E, Hembree WE, Canfield RE
1995	Otomatik hCG kemilüminesans-immünometri testi	Vankrieken L, Hertogh RE

hCG varyantları, molekül başına 15'e kadar sialik asit kalıntısı içeren glikoproteinlerdir. hCG varyantları, glikoproteinlerin en glikozile edilmiş olanıdır. hCG, moleküler ağırlığa göre %30 şeker içerir, hiperglikozile edilmiş hCG, %39 şeker içerir ve hiperglikozile edilmiş hCG içermeyen β -alt birimi, moleküler ağırlığa göre %42 şeker içerir. hCG, aşırı molekül ağırlıkları nedeniyle, 36 saatlik dolaşım yarı ömrüyle insan kanında dolaşan en uzun moleküldür. hCG'nin beş ayrı varyantı mevcut; her biri aynı amino asit dizisine sahiptir, farklı hücreler tarafından üretilir ve bağımsız işlevlere sahiptir. Bunlar hCG, sülfatlanmış hCG, hiperglikozile edilmiş hCG, hCG serbest β -alt birimi ve hiperglikozile edilmiş hCG serbest β -alt birimidir. Gebelik implantasyonu ve plasenta gelişiminden, uterusun ve fetüsün gelişiminden sorumludurlar.(17)

Sülfatlanmış hCG, kadınlarda hipofiz bezi tarafından üretilir ve adet döngüsü sırasında steroidogenezi ve oositin yumurtlamasını kontrol eder. H-hCG/hCG serbest β yolu, tüm gelişmiş insan kanser biyolojisinin merkez noktasıdır ve kanser büyümesini, kanser istilasını ve kanser malignitesini yönlendirir.(18)

1977'de hCG'nin bir varyantı olarak hiperglikozile hCG'yi ilk keşfedildiğinde "invaziv trofoblast antijeni" adı verilmesinin nedeni hamileliğin implantasyonunu ve koryokarsinom hücrelerinin istilasına yön verdiği düşünülüyordu. hCG aminoasit dizilimi içerdiğinden dolayı yapısına göre H-hCG olarak adlandırıldı.(19)

hCG β -alt biriminin, dönüştürücü büyüme faktörü β (TGF β) onkoprotein molekül ailesinin bir parçasıdır. hCG hormonu 3 boyutlu yapıdadır ve β -alt ünitesindeki 4 peptidli sistin düğüm yapısı TGF β 'de ortaktır. Gebelikte üretilen hCG hormonunun ve hipofiz tarafından üretilen hCG'nin sülfatlanmış varyantının, bir yanıt oluşturmak üzere bir hCG/luteinize edici hormon (LH) reseptörü üzerinde etki gösterir. İlginç bir şekilde, hiperglikosile edilmiş hCG ve hCG serbest β -alt biriminin otokrin olduğu ve ayrı ayrı işlev görerek, bu hCG formlarını üreten hücreler üzerindeki bir TGF β reseptörüne bağlanıp onu antagonize eder.(20)

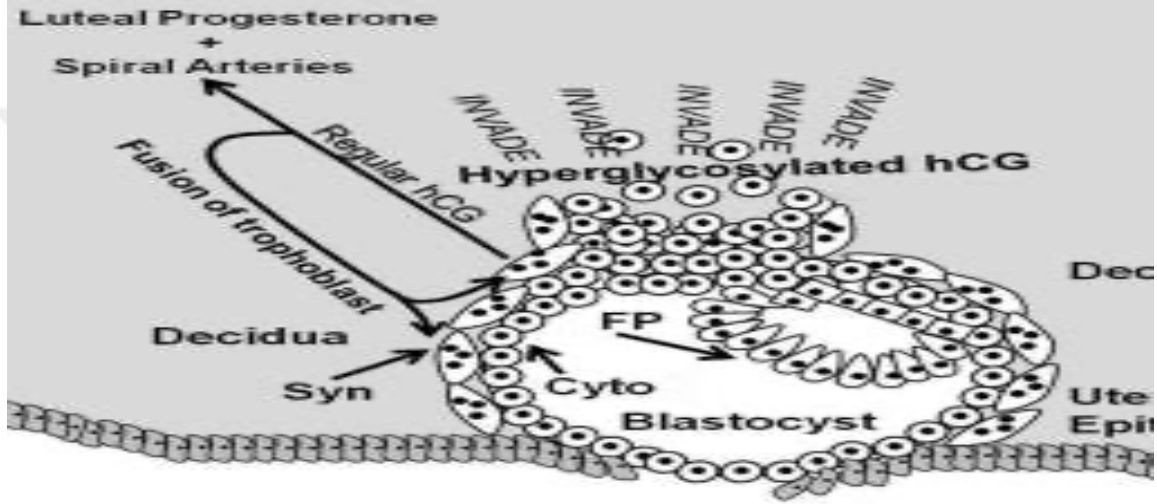
2.3. HİPERGLİKOLİZE HUMAN KORYONİK GONADOTROPİN (H-hCG)

2.3.1. H-hCG'nin Yapısı, Sentezi, Fonksiyonu ve Klinik

H-hCG, hCG ile aynı polipeptit yapısına ve çok daha büyük N- ve O- bağlı oligosakkaritlere sahip bir glikoproteindir. Oligosakkaritler, hiperglikozilasyonun derecesine bağlı olarak hCG'nin moleküler ağırlığını 36.000 ila 37.000 u'dan 40.000 ila 41.000 u'ya çıkarır. H-hCG, üç antenli N-bağlantılı oligosakaritlere ve çift molekül boyutlu O-bağlantılı oligosakaritlere sahiptir. Sadece büyük oligosakkaritlerin varlığıyla hCG'den farklılık gösterir ve tamamen ayrı bir biyolojik fonksiyona sahiptir. Bu, aynı peptit omurgasına sahip olan ve yalnızca oligosakkarit yapısı farklılık gösteren iki bağımsız molekülün bilinen tek örneğidir. hCG, sinsityotrofoblast hücreleri tarafından üretilirken H-hCG, ekstrasitotrofoblast hücreleri tarafından üretilir. H-hCG, koryokarsinom sırasında trofoblast invazyonunu(Şekil4'de görüldüğü gibi), sitotrofoblast hücrelerinin büyümesini ve gebelikte plasental implantasyonu teşvik eder. hCG'nin hamilelik sırasında çok sayıda işlevi vardır; progesteron üretimini uyarır, uterusu anjiyogenezi teşvik eder, istilacı plasental dokuyu immün baskılar, hamilelik sırasında fetüsün büyümesiyle birlikte uterusun büyümesini teşvik eder, büyüyen sitotrofoblast hücrelerinin farklılaşmasını uyarır. Hamilelik sırasında uterusun miyometriyumundaki kasılmaların sessizleşmesini sağlar ve aynı zamanda fetal organların büyüme ve gelişmesinde de işlevi vardır.(21)

H-hCG'ye bağlanan monoklonal antikor B152 'nin immünometrik analizlerde kullanılması hamileliğin tespit edilmesine olanak sağlar. Aynı zamanda gestasyonel trofoblastik hastalıkların yönetimine ve hareketsiz gestasyonel trofoblastik hastalığın saptanmasına da olanak tanır. Aynı test, agresif ve minimal agresif gestasyonel trofoblastik hastalığı ayırt etmek ve kemoterapiye yanıt veren ve kemorefrakter olan hastaları ayırt etmek için kullanılabilir. H-hCG testi Down sendromlu gebelikleri taramak ve gebelikte hipertansif bozukluk geliştirmesi muhtemel hastaları tahmin etmek için kullanılabilir. Ayrıca düşük yapacak gebelikler ile terme gidecek gebelikleri ayırt etmek için de kullanılabilir.(22) Aşırı düşük H-hCG seviyeleri, biyokimyasal gebelik veya erken gebelik kaybı, spontan düşük veya ektopik gebelik gibi sağlıksız gebeliklerin göstergesi olabilir.(23) Hidatidiform mol vakalarında minimal düzeyde mevcut olsa da, artan H-hCG oranları, invaziv hidatidiform mol (invaziv mol) ve koryokarsinomun gelişimi ve ilerlemesine işaret edebilir.(24) H-hCG aynı zamanda invaziv ve invazif olmayan gestasyonel trofoblastik hastalıkları da ayırt

edebileceği düşünülmektedir. H-hCG benzer şekilde sitotrofoblast hücrelerine retrodiferansiyasyonu ve testiküler germ hücreli malignite vakalarında kanserin ilerlemesini gösterebilir.(24) H-hCG ayrıca gebeliğin hem birinci hem de ikinci trimesterinde Down sendromlu fetüsler için geliştirilmiş bir belirteç olarak kullanılmıştır.(25) Aynı zamanda üçüncü trimesterdeki hipertansif bozuklukların ve gebeliğin ikinci trimesterindeki preeklampsinin öngörülmesinde de olağanüstü bir belirteç olduğu varsayılmaktadır.(26)



Şekil2. Villöz plasental doku, sitotrofoblast ve sinsityotrofoblast hücreleri ve regüler hCG ve H- hCG fonksiyonu. 3-5. gebelik haftalarında blastokist implantasyonunu ve trofoblast invazyonunu göstermektedir. Oklar, regüler hCG'nin ve H-hCG'nin biyolojik fonksiyonlarını göstermektedir. Mononükleer hücreler sitotrofoblast hücreleridir, çoklu çekirdekli hücreler (siyah daireler) sinsityotrofoblast hücrelerini temsil eder.(27)

Tablo2. Hamilelik sırasında hCG'nin biyolojik fonksiyonları(16)

	Fonksiyonlar
hCG	1.Korpus luteal progesteron üretiminin teşvik edilmesi
	2. Uterusta anjiyogenez
	3. Sitotrofoblast farklılaşması
	4. İnvaziv trofoblast hücrelerinin fagositozunun immün baskılanması ve bloke edilmesi
	5. Fetal büyümeye paralel olarak uterusun büyümesi
	6. Uterin kasların kasılmasının durması
	7. Fetal organların büyümesinin uyarılması
	8. Umbilikal kordonunun büyümesi ve gelişimi
	9. Blastokist, beklenen implantasyona ilişkin invazyondan önce uterus desiduasına sinyal verir
	10. Spermdeki hCG ve fallop tüplerinde bulunan reseptörler hamilelik öncesi iletişimi düşündürüyor.
	11. Hipokampus ve beyin sapındaki hCG reseptörleri hamilelikte bulantı ve kusmaya neden olabilir
H-hCG	1. Hamileliğin implantasyonu sırasında meydana geldiği gibi sitotrofoblast hücrelerinin invazyonu ile implantasyonu uyarır
	2. Sitotrofoblast hücrelerinin büyümesini uyararak plasentanın büyümesini uyarır
hCG ve H-hCG birlikte	1. Hemokoryal plasantasyona neden olur

2.3.2. Gebelik İmplantasyonunda H-hCG

Kendimize soruyoruz, hCG'nin gerçekten hamilelik başarısızlığıyla bir ilgisi var mı? Gösterildiği gibi H-hCG implantasyon için uyarıcıdır. Bu molekül biyolojik olarak hamileliğin implantasyonunu kontrol eder ve başarısız hamileliklerin mükemmel bir göstergesi veya daha doğrusu hamilelik başarısının bir göstergesi olabilir.

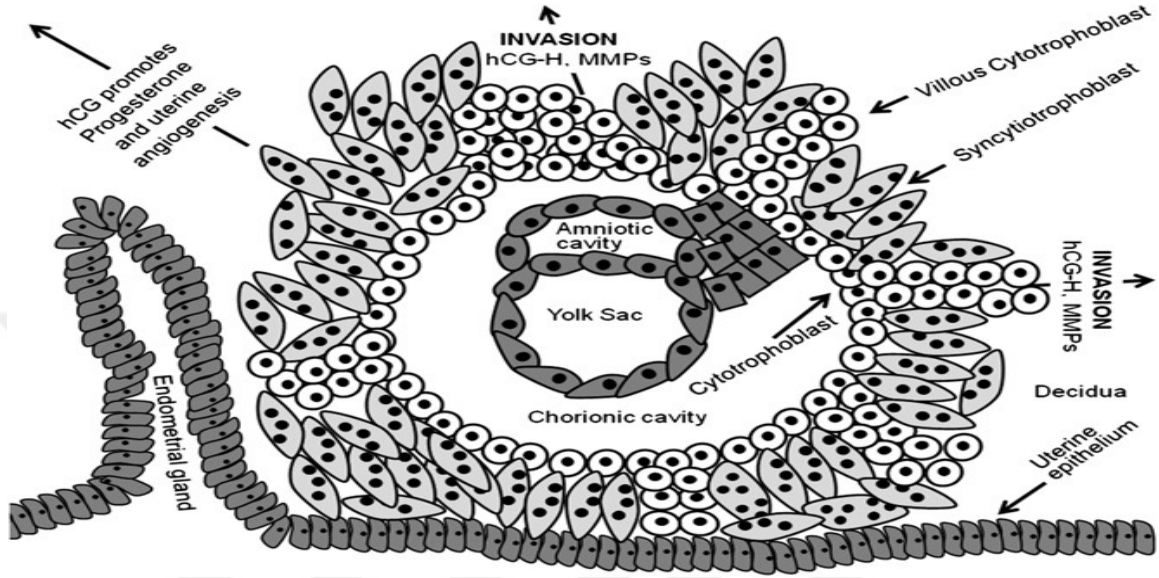
İnsanlarda gebelik başarısızlıklarının iki ana türü vardır; spontan düşükler ve biyokimyasal gebelikler. Spontan düşükler gebeliğin birinci veya ikinci trimesterinde meydana gelir. İkinci üç aylık dönemden sonra ölü doğan gebelikler olarak kabul edilirler. Dünya çapında birinci ve ikinci trimesterdeki düşükler tüm gebeliklerin %15-20'sini oluşturmaktadır. ABD'de düşük oranı tüm gebeliklerin %16'sını oluşturuyor. Biyokimyasal gebelikler, implantasyonun başarısız olduğu,

implantasyondan sonraki 7 gün içinde hızla başarısız olan ve geç adet kanamasına (1-3 gün gecikmeli) yol açan gebeliklerdir. Biyokimyasal gebelikler Amerika Birleşik Devletleri'ndeki tüm gebeliklerin %25'ini oluşturmaktadır. Biyokimyasal gebelikler ve spontan düşüklükler birlikte insan gebeliklerinin yaklaşık %41-45'ini oluşturur. Doğurganlık uzmanları gebelik başarısızlıklarını tahmin etmek için çok sayıda test protokolü geliştirmiştir. hCG ikiye katlama testi, %36 yanlış pozitiflik oranıyla düşüklüklerin yalnızca %28'ini tespit eder. Bu testin yalnızca %25 öngörü değeri vardır.(28)

H-hCG'nin gebeliğin implantasyon zamanı olan üçüncü gebelik haftasında en belirgin olduğu düşünüldüğünde hamileliğin implantasyonunu yönlendiren bir sinyal olduğu düşünülebilir. Koryokarsinom patogenezinde invazyon ve malignite sinyalinin yönlendiricisinin H-hCG olduğu düşünülmektedir.(Şekil 3) H-hCG ayrıca Matrigel membranları yoluyla ilk trimester sitotrofoblast hücrelerinin invazyonunu uyarır. Sasaki ve ark. yaptıkları çalışmada H-hCG ile implantasyon arasındaki ilişkiyi göstermeye çalışmıştır.(23) Spontan düşüklüklerin üçte ikisi uygunsuz implantasyondan, gerisi ise genetik anormalliklerden kaynaklanmaktadır.(29). H- hCG'nin uygun gebelik implantasyonunun sinyalini vermedeki kritik rolünü ve spontan düşüklüklerin muhtemelen yetersiz H-hCG implantasyon sinyalinden kaynaklandığını doğrulamaktadır.(23)

H-hCG, hamileliğin erken döneminde üretilen toplam hCG'nin ana şeklidir. Serumda, gebeliğin 3. haftasındaki toplam hCG'nin %90'ını ve gebeliğin 4. haftasındaki toplam hCG'nin %54'ünü oluşturur. Bu nedenle, çoğu kadının hamilelik testi yaptığı 2 hafta boyunca temel hCG unsurudur.(30) H-hCG 'nin biyokimyasal gebelik ve spontan düşüklükler için bir belirteç olduğunu düşünüyoruz. IVF ve normal gebeliklerle planlanan çalışmada, H-hCG'nin gebelik kayıplarını %80'ten fazla bir tahmin değeri ile öngördüğü gösterilmiştir.(31) Dört ve sekizinci gebelik haftaları arasında spontan düşüklükleri tahmin etmek için 9 ng/ml H-hCG referans değeri kullanılarak düşüklüklerin %73'ünün tespit edilmediği gösterilmiştir. Pozitif prediktif değer, ROC eğrisi altında kalan alanın gösterdiği gibi %92 doğrulukta olduğu hesaplanmıştır. Gebelik kayıplarını öngörme açısından spot H-hCG'nin , spot hCG veya hCG'nin ikiye katlanma testine göre büyük bir gelişme olarak kabul edilebilir.(32) Yapılan bir çalışmada hCG ve H-hCG düzeylerinin ilk tespit edilebildiği zaman olan gebelik implantasyon döneminde değerler incelenmiş ; gebelik kaybıyla sonuçlanan 20 gebenin %65 'i uygun şekilde implantasyon için gereken H-hCG miktarını

üretmedikleri gösterilmiştir. H-hCG, gebelik implantasyonunun gerçekleştiği gün sağlıklı bir şekilde terme gidecek gebelikler ile gebelik kaybıyla sonuçlanacak gebelikler arasında ayırım yapabileceği gösterilmiştir. H-hCG, gebelik prognozu için iyi bir göstergedir.(23)



Şekil3. Dördüncü gebelik haftasında blastokistin invazyonu. Çoklu sitotrofoblast uzantıları veya villöz yapıların kökleri oluşur. H-hCG kaynaklı invazyon desidua boyunca ve miyometriyuma doğru devam eder. Sitotrofoblast hücreleri beyaz renkte, sinsityotrofoblast hücreleri açık gri renkte, uterus epiteli ve amniyon hücreleri ise koyu gri renkte gösterilmiştir.(33)

2.4. İLK TRİMESTER GEBELİK KAYIPLARI

2.4.1. Biyokimyasal Gebelik

İdrarda veya serumda gebelik testi(hCG) 'nin pozitif olması sonucu ultrason ile veya histolojik doğrulama yapılamadan önce serum beta-hCG düzeyinin düşüğe geçmesi sonucu oluşan gebelik kaybıdır.

2.4.2. Anembriyonik Gebelik (EGS; Empty Gestastional Sac, The Blighted Ovum, Boş Gebelik Kesesi)

Embriyonik olmayan gebelik, gebelik kesesi içerisinde embriyonun bulunmadığı yaşamla bağdaşmayan bir gebelik çeşididir.(34)

Anembriyonik gebelik tanısı şu durumlarda konulabilir:

- Ortalama gebelik kesesinin çapı ≥ 25 mm olduğunda endovajinal ultrasonografik taramada embriyo görülmemesi
- Takip endovajinal ultrasonografik taramada embriyonun görülmemesi
- Taramadan 11 gün sonra gebelik kesesi içerisinde yolk kesesinin görülmesine rağmen embriyonun olmaması
- Taramadan 2 hafta sonra gebelik kesesi içerisinde yolk kesesinin veya embriyonun görülmemesi

ile anembriyonik gebelik tanı konulabilir.(35)



Şekil4. Anembriyonik Gebelik. Yolk kesesi içeren gebelik kesesini gösteren tek bir sonografik görüntü. Fetal cisim görülmez.(36)

Şekil4'te görüldüğü gibi döllenmiş bir yumurta rahim içine yerleşir ve bir gebelik kesesi oluşturur, ancak içinde bir embriyo gelişemez.(37)

2.3.3. Missed Abortus

Herhangi bir semptom oluşmadan fetal kardiyak aktivitenin durması olarak tanımlanabilir. Bu bireylerin artık asemptomatik gebelik kaybına sahip olduğu tanımlanmaktadır.(34) İntrauterin gebelik kesesi içerisindeki CRL \geq 7mm olmasına rağmen fetal kardiyak aktivitenin olmaması ile tanı konulur.(34)

2.3.4. Abortus İncipiens

Durdurulamayan düşük olarak tanımlanır. Orta derecede kanama, alt abdomende kramp tarzında ağrı ve servikal dilatasyon oluşumu sonucu düşüğün kaçınılmaz hale gelmesi ile karakterizedir.

2.3.5. Komplet Abortus

Gebelik ürününün tamamı (fetüs membranlar, plasenta) dışarı atılmıştır. Kanama ve ağrı durmuş, serviks kapanmıştır.

2.3.6. İnkomplet Abortus

Gebelik ürününün tamamı dışarı atılmamıştır. Genelde fetüs atılmış, plasenta içerdedir. Kanama giderek azalmaz, serviks açık kalır.

2.3.7. Ektopik Gebelik

Ektopik gebelik, ekstrauterin gebeliktir. Karın ağrısı ve/veya vajinal kanama ektopik gebeliğin en sık görülen belirtileridir. Bu semptomları gösteren üreme çağındaki her hastada, ektopik gebelikten şüphelenilmelidir. Ancak hastaların yüzde 50'sinden fazlası tubal rüptürden önce asemptomatiktir ve ektopik gebelik için tanımlanabilir bir risk faktörüne sahip değildir. Ektopik gebeliklerin çoğunluğu fallop tüpünde meydana gelirken, tüp dışı gebelikler arasında servikal, interstisyel, over ve abdominal gebelikler yer alır. Nadiren heterotopik olabilir (hem intrauterin hem de ekstrauterin gebeliği içerir). Ektopik gebelik durumunda oluşan tubal rüptür hayatı tehdit eden kanamalara neden olabilir.

Transvajinal ultrasonografi(TVUSG)'de intrauterin bir gebelik görülmediği durumlarda; Eğer TVUSG'de ekstraovaryan adneksial kitle veya intraperitoneal kanamanın olması, anormal derecede yükselen serum hCG düzeyi, ektopik gebelik için risk faktörleri olan bir hastada karın ağrısı ve/veya vajinal kanamanın varlığı ektopik gebelik açısından kuvvetli şüphe uyandırırken ; TVUSG'de yolk kesesi veya embriyo bulunan ekstrauterin gebelik kesesinin olması, eğer yapıldığıysa uterin aspirasyonda herhangi bir gebelik ürününün saptanmamış ve işlem sonrası serum hCG değerinin düşmemesi ve de tanısız laparoskopisi ya da laparotomi esnasında gebelik dokusunun görülmesi ile rezeksiyon sonrasında histolojik olarak doğrulanması ile kesin tanı konulur.(38)

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Çalışma Tasarımı

Çalışmamız, Sağlık Bilimleri Üniversitesi (SBÜ) Kocaeli Şehir Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, Kocaeli, Türkiye’de, tek merkezli “Prospektif gözlemsel” olarak Aralık 2023 – Şubat 2024 tarihleri arasında gerçekleştirildi. Çalışmaya SBÜ Kocaeli Şehir Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 28/12/2023 tarihinde 2023-19 sayılı protokol numarası ile etik kurul onayı alındıktan sonra başlandı. Dahil edilme kriterlerini sağlayan her hastaya çalışma hakkında sözel ve yazılı bilgi verildi ve yazılı onam alındı.

3.2 Çalışma Popülasyonu

T.C. Sağlık Bakanlığı, Kocaeli Şehir Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği polikliniklerine belirtilen tarih aralıklarında gebelik şüphesi ile başvuran hastalarımız değerlendirildi. Gebelik şüphesi ile başvuran her hastadan istediğimiz β - hCG değeri için kan tetkikleri istendi. Hastalarımızın anamnezi için başvuru nedenleri / varsa semptomları, önceki gebelik öyküleri, önceki gebeliklerindeki doğum şekilleri, son adet tarihleri, yaş, boy, gebelik, parite, abort, kronik hastalıkları ve IVF(in vitro fertilizasyon, tüp bebek) öyküleri sorgulandı ve not edildi. Rutin muayene sonrasında hastalarımızın kan tetkiki sonuçlarıyla tekrar başvurusu esnasında eğer çalışmamıza dahil edilme kriterleri arasında ise hastalarımıza yaklaşık 2 dakika süren “Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu”nu çalışmamızı ve gerekçesini kısaca özetleyerek çalışmamıza katılmayı kabul eden 126 hastadan yazılı onam formları imzalatılmıştır.

Dahil edilme kriterleri; spontan gebelik şüphesiyle başvurma, β - hCG değerinin 3000 mIU/ml değerinin altında olması, Abdomen USG ile gestasyonel kese (GS)’nin görülmediği gebeler, çalışmaya katılmaya gönüllü olanlar, 18 yaş ile 45 yaş aralığında olan gebeler, çalışma sürecinde takipte kalan gebeler olarak belirlendi.

Dışlama kriterleri ; başvuru esnasında vajinal kanaması olan hastalar, Tip2 Diyabetes mellitus, Tiroid bezi hastalıkları gibi gebelik seyrini olumsuz etkileyebilecek rahatsızlıkları olan hastalar, başvuru esnasında β - hCG değerinin 3000 mIU/ml’den yüksek olan ve/veya GS’nin abdomen USG ile görülen gebeler, 18 yaşından küçük ve 45 yaşından büyük olan gebeler, çalışmaya katılmak

istemeyen hastalar, çalışma sürecinde takipten çıkan hastalar, başvurusundaki gebeliği IVF olan hastalar, hastane veri tabanında epikriz bilgileri eksik olan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır.

Başvuran hastalardan dahil edilme kriterlerine uyan gebeler için rutin kontrol ve muayene için bir hafta sonra ve birinci trimester sonunda kontrole çağrıldılar. Verilerine ulaşılan ve takibe gelen toplam 96 hasta ile çalışmamız tamamlandı.

3.3 Çalışma Protokolü

Etik kurulu onayı alındıktan sonra SBÜ Kocaeli Şehir Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nin acil veya gebe polikliniğine dahil edilme kriterlerimizce belirlenen gebeler takibe alındı. Tüm kadınlara, deneyimli Kadın Hastalıkları ve Doğum Uzmanları tarafından, kliniğimizin sahip olduğu, Voluson (S10 BT18 , GE Ultrasound KoreaLtd.) marka makineler kullanılarak ultrason değerlendirmesi yapıldı.

Hastalardan gebelik şüphesiyle başvuran arasından gebeliğin implantasyon döneminde olduğu kabul edilen β -hCG değeri pozitif (5 - 3000 mIU/ml arası) olanlardan alınan kanı Kocaeli Şehir Hastanesi laboratuvarında Nuve marka NF1200R çok amaçlı santrifüj cihazı ile 4000 devir 10 dakika süre ile 5 °C'de santrifüj ederek elde edilen kanın plazma kısmı -80°C derecede ısıya dayanıklı tüplere 200ul beyaz pipet ucu yardımıyla konuldu. Bu tüpler Kocaeli Şehir Hastanesi kan merkezi laboratuvarında bulunan Ultra Low Temperature Freezer Coolermed LWF670 cihazında -80°C'de saklandı. Hasta takibi tamamlandığında çalışmamızı iki gruba ayırdık. Gebelik takipleri birinci trimester sonuna kadar sağlıklı ilerleyenler bir grup sağlıklı olanlar(boş gebelik, missed abort, ektopik gebelik, kimyasal gebelik, komplet abort, inkomplet abort) bir grup olacak şekilde gruplandırdık. Soğuk zincir ile gruplandırdığımız tüpler içerisindeki plazmalar Kocaeli Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı bünyesindeki laboratuvara taşındı. Plazmalar H-hCG çalışılmak üzere mikro ELİSA sandiviç ELİSA yöntemi ile çalışılmıştır. Hasta sonuçları mg/L cinsinden hesaplanarak raporlanmıştır. Cihaz TRİTURUS GRİFOLS(İspanya)'tur. Testin standart aralığı : 0.75 – 48 mg/L iken sensitivitesi: 0.37mg/L 'dir. Hasta plazmaları -80°C'den çıkarıldı. Oda ısısına gelmiş suyun içerisinde çözündürüldü. Standartlar ve kontroller ½ seri dilüsyon ile hazırlandı. 96'lık antijen kaplı plakaya A1-G1'e kadar 50 mikrolitre standartlardan pipetlendi. Diğer kuyucuklara sırasıyla herbir hastadan ayrılmış 40 mikrolitre serum örneklerinden pipetlendi.

Hastaların üzerine 10 mikrolitre anti-hCG-H antikoru pipetlendi. Tüm plaka'nın üzerine 50 mikrolitre streptavidin-HRP konjugat pipetlendi. 37°C'de üzeri kapatılarak 1 saat inkübasyona bırakıldı. 20ml'lik Wash Buffer Concentrate 25X solüsyonu hazırlandı. 480mikrolitre distile su üzerine 20 mikrolitre Wash Buffer Concentrate 25X solüsyonu eklenerek final volüm 500mikrolitre'ye tamamlandı. Plaka inkübasyondan çıkarıldı. Hazırlanan Wash Buffer Concentrate 25X solüsyonu ile 300 mikrolitre ile 5 kez yıkandı. Yıkama sonrası 50 mikrolitre substrate A solüsyonu hemen üzerine 50 mikrolitre substrate B solüsyonundan eklendi. 37°C'de karanlık bir yerde 10 dk inkübasyona bırakıldı(Not: inkübasyon süresi 10 dk'yı aşmadı). Plaka inkübasyondan çıkarıldı. Üzerine 50 mikrolitre stop solüsyonu tüm hastalara ve standartlara eklendi. Ana referans 450nanometre, ikinci referans 620nanometre 10 dk içerisinde okutma işlemi yapıldı.

Sonuçta, gebeliğin implantasyon döneminden itibaren takibe alınan gebeliklerin birinci trimester sonuna kadar ki süreçleri sonucu sağlıklı seyreden gebelikler ve sağlıklı giderek sonlanan gebelikler olarak iki gruba ayrıldı. Bu sonuçlar, implantasyon dönemindeki H-hCG değeri ölçülerek literatür eşliğinde yorumlandı.

3.4 İstatistiksel Analiz

Veri analizi SPSS 25 programı ile yapılmıştır. Öncelikle nicel değişkenler için tanımlayıcı istatistikler verilmiştir. Nicel olan tüm değişkenler için normallik analizinde çarpıklık ile basıklık değerlerine bakılmış olup bu değerler ± 2 arasında olduğunda normal dağılmaktadır (George & Mallery, 2010). Sağlıklı gebeliği olan ve olmayan hastaların gruplarına göre normal dağılım gösteren bu değişkenler bağımsız gruplar t testi analiz yöntemi ile karşılaştırılmıştır. Bu yöntemde iki kategoriden oluşması beklenirken kategorilerindeki veri sayısı yeterli ($N > 30$) olması gerekir. Sağlıklı gebeliği olan ve olmayan hastalar için kesme değerinin belirlenmesinde Receiver Operating Characteristic (ROC) analizi istatistiği kullanılmıştır. Kesme noktası, ROC eğrisi altında kalan alan (EAA) etkinlik düzeyine bağlı olarak belirlenlendi. Son olarak H-hCG ölçümlerinin hastaların sağlıklı gebeliği olma olasılıklarına etkisinde lojistik regresyon analiz yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem için bağımlı değişken (sağlıklı gebelik olan ve olmayan) iki kategorili (1-0) olması gerekirken ve bağımsız değişkenler ise sürekli ya da kategorik olabilir.

İstatistiksel analizler için SPSS 22.0 (Chicago, IL, ABD) programı kullanılmış ve $P<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Bu bölümde araştırma sorularına yönelik bulgulara yer verilmiştir.

Çalışmamıza katılan toplam 96 hastanın hastaların yaşları 18-45 arasında ve ortalaması 27,46'dır. BMI değerleri 17,6-40,6 arasında olup ortalaması 26,43 olarak elde edilmiştir. Her bir hastanın gebelik sayısı 1-6 arasında değişirken ortalaması 2,14 olup parite 0-4 arasında ve ortalaması 0,68'dir ve abort sayıları ise 0-3 arasında ve ortalaması 0,46 olarak elde edilmiştir. Total hCG ölçümleri 18,9-2844 arasında ve ortalaması 668,78 ; H-hCG ölçümleri 6,6-93,9 arasında ve ortalaması 29,12'dir ve total hCG/H-hCG oranı ise 1,4-186,9 arasında ve ortalaması 35,76 olarak elde edilmiştir(Tablo3).

Tablo 3. Değişkenlere Göre Tanımlayıcı İstatistik Tablosu

Ölçek Puanları	Min-Maks	Ort±ss	Çarpıklık	Basıklık
Yaş	18-45	27,46±5,79	0,863	1,443
BMI	17,6-40,6	26,43±5,7	0,583	-0,248
Gebelik	1-6	2,14±1,31	1,031	0,097
Parite	0-4	0,68±0,94	1,566	2,583
Abort	0-3	0,46±0,81	1,771	2,386
Total hCG	18,9-2844	668,78±679,48	1,274	1,039
H-hCG	6,6-93,9	29,12±22,79	1,409	1,136
Total hCG/H-hCG	1,4-186,9	35,76±45,07	1,813	1,79

Çalışmamızda prospektif takibe aldığımız gebelerimizin birinci trimester sonuna kadar sağlıklı seyredenler bir grup , sağlıklı olmayan seyredenler (kimyasal gebelik, missed abort, ektopik gebelik, anembriyonik gebelik) diğer grup olacak şekilde kategorize edildi. **Sağlıklı gebeliği olan ve olmayan hastaların yaş, BMI, gebelik sayısı, parite, abort, total hCG, H-hCG ve total hCG/**

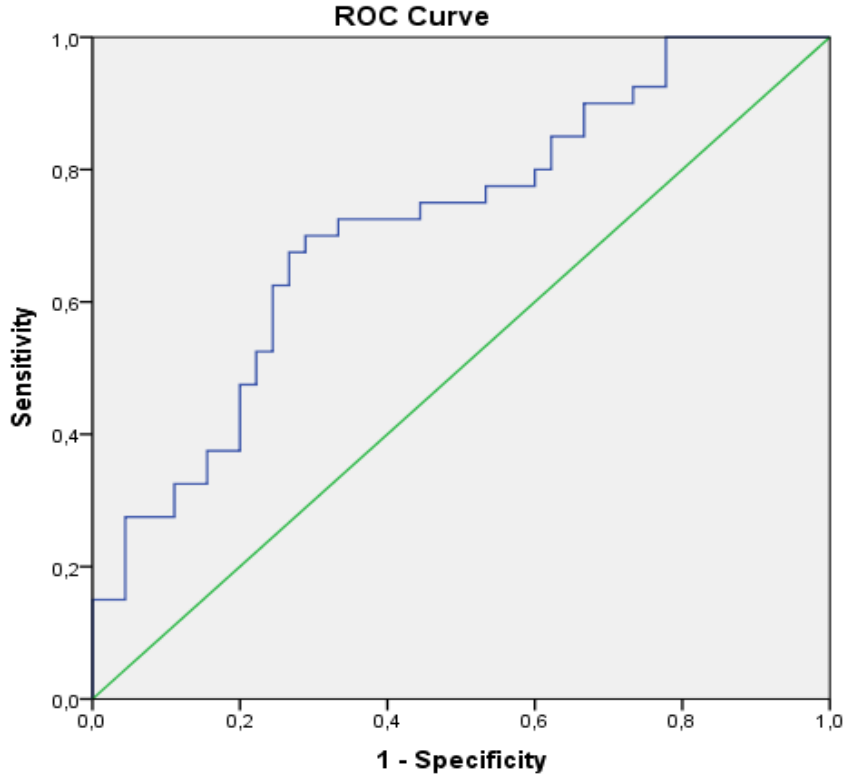
H-hCG oranı ölçümlerinin karşılaştırılmasına ilişkin sonuçlar bağımsız gruplar t testi yöntemi kullanılmış ve Tablo4’de gösterilmiştir.

Tablo 4. Sağlıklı Gebeliği Olan ve Olmayan Hastaların Değişkenlerinin Karşılaştırılması

Değişken	Grup	N	Ort±ss	p
Yaş	Sağlıklı olmayan gebelik	46	29,02±6,69	0,01
	Sağlıklı gebelik	43	25,74±4,02	
BMI	Sağlıklı olmayan gebelik	46	26,37±5,79	0,93
	Sağlıklı gebelik	43	26,5±5,7	
Gebelik	Sağlıklı olmayan gebelik	46	0,97±1,11	0,005
	Sağlıklı gebelik	43	0,38±0,59	
Parite	Sağlıklı olmayan gebelik	46	2,49±1,5	0,019
	Sağlıklı gebelik	43	1,78±0,98	
Abort	Sağlıklı olmayan gebelik	46	0,51±0,85	0,566
	Sağlıklı gebelik	43	0,41±0,76	
Total hCG	Sağlıklı olmayan gebelik	46	479,46±470,07	0,006
	Sağlıklı gebelik	43	871,3±805,83	
H-hCH	Sağlıklı olmayan gebelik	46	21,6±16,33	0,001
	Sağlıklı gebelik	43	37,17±25,97	
Oran	Sağlıklı olmayan gebelik	46	33,41±40,58	0,043
	Sağlıklı gebelik	43	38,28±49,79	

Sağlıklı gebeliği olan ve olmayan hastaların yaş, gebelik sayısı, parite, total hCG, H-hCG ve total hCG/ H-hCG oranı ölçümleri arasında anlamlı farklılık elde edilmiştir ($p<0.05$). Sağlıklı gebeliği olan hastaların yaş, gebelik sayısı ve parite değerlerinin ortalaması sağlıklı gebeliği olmayan hastalardan daha düşüktür. Sağlıklı gebeliği olan hastaların total hCG, H-hCG ve total hCG/ H-hCG oranı ölçümleri arasında anlamlı farklılık elde edilmiştir ($p<0.05$). Buna göre sağlıklı gebeliği olan hastaların total hCG, H-hCG ve total hCG/ H-hCG değerlerinin ortalaması sağlıklı gebeliği olmayan hastalardan daha yüksektir. Ancak sağlıklı gebeliği olan ve olmayan hastaların BMI, abort ölçümleri arasında anlamlı farklılık yoktur ($p>0.05$).

Roc Analizi (H-hCG)



Şekil 5. H-hCG Ölçümü İçin ROC Eğri Grafiği (Sağlıklı Gebeliği Olanlar)

Sağlıklı gebeliği olan ve olmayan hastaların H-hCG ölçümlerine göre ROC analizi şekil 5'te gösterilmiştir.

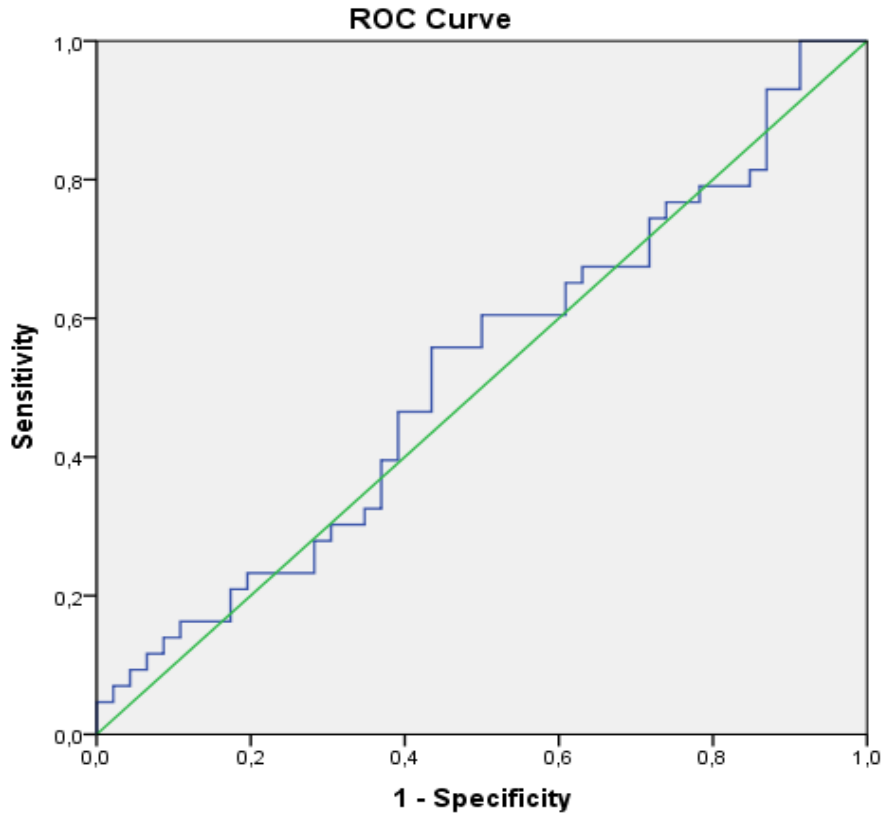
Tablo 5. ROC Tablosu (H-hCG)

Bağımlı	Bağımsız	EAKA (%95)	p	Kesme Değer	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)
Gebelik Türü	H-hCG	0,716 (0,607-0,825)	0,001	21,25	80	81,1

EAKA: Eğri Altında Kalan Alan

Sağlıklı gebeliği olan hastalarda H-hCG ölçümü için ROC eğrisi altında kalan istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$). H-hCG ölçümü için eğri altında kalan alan 0.716 olup sağlıklı gebeliği olan ve olmayan hastaları birbirinden ayıran H-hCG ölçümü için kesme değeri (cut off value) 21,25 olarak elde edilmiştir. Sağlıklı gebeliği olan grubunda H-hCG ölçümü için duyarlılık %80 ve özgüllük %81,1 olarak saptanmıştır.

Roc Analizi (Oran)



Şekil 6. Oran Ölçümü İçin ROC Eğri Grafiği (Sağlıklı Gebelik Olan)

Sağlıklı gebeliği olan ve olmayan hastaların oran ölçümlerine göre ROC analizi şekil 5'te gösterilmiştir.

Tablo 6. ROC Tablosu (H-hCG)

Bağımlı	Bağımsız	EAKA (%95)	p	Kesme Değer	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)
Gebelik Türü	Oran	0,606 (0,501-0,743)	0,038	19,3	75,8	76,5

EAKA: Eğri Altında Kalan Alan

Sağlıklı gebeliği olan hastalarda oran ölçümü için ROC eğrisi altında kalan istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). H-hCG ölçümü için eğri altında kalan alan 0.606 olup sağlıklı gebeliği olan ve olmayan hastaları birbirinden ayıran oran ölçümü için kesme değeri (cut off value) 19,3 olarak elde edilmiştir. Sağlıklı gebeliği olan grubunda H-hCG ölçümü için duyarlılık %75,8 ve özgüllük %76,5 olarak saptanmıştır.

Hastaların H-hCG ölçümleri sağlıklı ve sağlıklı olmayan gebeliğe etkisi var mıdır?

Hastaların H-hCG ölçümlerini sağlıklı gebelik olma durumuna olan etkisinde lojistik regresyon analiz yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem için bağımlı değişken iki kategorili (1 ve 0) şeklinde kodlanması gerekir. Referans kategori kodu 1 olan değerdir.

Tablo 7. Lojistik Regresyon Tablosu

Değişkenler	B	Standart Hata	Wald	p	Exp(B)	%95 Güven Aralığı	
H-hCG	0,136	0,012	8,771	0,003	1,136	1,012	1,061
Sabit	-1,071	0,388	7,62	0,006	0,343		
Model istatistikleri	R ² =0,12(Cox ve Snell); R ² =0,16 (Nagelkare) $\chi^2_{(1)}=11.336$; $p<.001$						

Hastaların H-hCG ölçümlerinin sağlıklı gebelik grubunda olma durumlarına yönelik incelenen lojistik regresyon sonucu anlamlıdır ($\chi^2_{(1)}=11.336$, $p<0.001$). The Cox & Snall R kare ve Nagelkerke R kare değerleri, bağımlı değişkendeki varyansın bağımsız değişkenler tarafından açıklanma oranını gösterir. Hastaların sağlıklı gebelik grubunda yer alma durumuna ilişkin değişkenliğin %12'si ile %16'sı arası H-hCG ölçümü ile açıklanmaktadır. Hastalar için doğru sınıflandırılma %62.9 olarak elde edilmiştir.

H-hCG ölçümü hastaların sağlıklı gebelik grubunda olma durumuna etkisi pozitif yönde ve anlamlıdır (B=0.136, Wald=8.771, $p<0.05$). H-hCG ölçümlerinde 1 birimlik artış olduğunda hastaların sağlıklı gebelik grubunda olma olasılıklarını $[1.136-1*100]$ %13.6 daha yükseltir.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada gebeliğin implantasyon döneminde bakılan serum H-hCG değerinin birinci trimester gebelik sonuçlarını tahmin edebileceğini varsaydık. Gebeliğin implantasyon dönemi(yaklaşık 3. gebelik haftası)'nde H-hCG oranı gebelik sürecindeki en yüksek değerdedir.(27) Çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler ışığında H-hCG değerinin gebeliğin implantasyon döneminde bakılması birinci trimester sonunda mevcut gebeliğin sağlıklı ya da sağlıklısız olacağını öngörmektedir. Birinci trimester sonuna kadarki süreçte sağlıklısız seyir sonrası sonlanmış olan gebeliklerde gebeliğin implantasyon döneminde bakılmış olan H-hCG değerleri , sağlıklı seyretmiş olan gebeliklerininkinden daha düşük değerlerde çıkmış olması H-hCG'nin predikte edici bir değer olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmamızdaki verilerimize paralel olarak Kovalevskaya ve ark. gebeliğin ilk trimesterinde spontan olarak düşük ile sonuçlanmış gebeliklerde oldukça düşük H-hCG oranları keşfetmişlerdir.(39) Bu önemli bir keşif olmasına rağmen herhangi bir klinik uygulama belirtilmedi. Bu keşiften iki yıl sonra bu bulgular Sutton-Riley ve arkadaşları tarafından doğrulandı. Serumdaki 13 ng/ml hCG-H'lik basit tek nokta kesme noktasının, gebeliğin 4 ila 7. haftaları arasında başarısızlık sonucunu (<13 ng/ml) term sonuçtan (>13 ng/ml) ayırt etmek için kullanılabileceğini gösterdi. Bu 13 ng/ml eşik değeri, hCG için karşılaştırılabilir bir eşik değeri için aynı hata oranında %42'lik saptamaya kıyasla %5 hata oranıyla başarısızlıkların (spontan düşük ve ektopik gebelik) %73'ünün saptanmasında çok önemliydi. ROC eğrisi sonuçlarının altında kalan alan veya hCG ve hCG-H kullanılarak yapılan test doğrulukları arasında anlamlı bir fark gözlemlendi ($p < 0,00005$).(40) Yaptığımız çalışmada da sağlıklı gebeliği olan hastalarda oran ölçümü için ROC eğrisi altında kalan istatikselsel olarak anlamlı bulduk ($p < 0.05$). Sağlıklı gebeliği olan grubunda H-hCG ölçümü için duyarlılık %75,8 ve özgüllük %76,5 olarak saptadık.

Çalışmamızdan farklı olarak serumda değil idrarda H-hCG değerine bakılarak Cole tarafından takibe alınan 127 erken gebelikten (81'i terme ulaşan gebelik, 18'i düşük ile sonuçlanmış ve 28'i ise biyokimyasal gebelik) oluşan bir seri rapor edilmiştir. Fakat çalışmamızla benzer şu sonuçlara ulaşılmıştır; devam eden gebeliklerle karşılaştırıldığında başarısız gebeliklerde H-hCG idrar düzeylerinin anlamlı derecede düşük olduğu gösterilmiştir.(8)

Sasaki ve arkadaşları, yaptığımızda çalışmada H-hCG'nin bakılacağı zamanla benzer olarak implantasyon sırasında üretilen H-hCG oranının, doğal yolla gebe kalan gebeliklerde gebeliğin sağlıklı devam etme başarısını tahmin edip edemeyeceğini araştırmışlardır. İmplantasyon gününde (hCG'nin > 1 mUI/mL olduğu gün) idrardaki H-hCG/toplam hCG oranının gebelik sonucu ile ilişkili olduğunu gözlemladiler. Bu oran miadına gelen gebeliklerin tamamında %50'nin üzerinde iken, düşükle sonuçlanan gebeliklerin yalnızca %35'inde görülmüş. İmplantasyon sırasında sitotrofoblastın doğru büyümesi ve invazyonu için H-hCG/toplam hCG oranlarının > %50 olması gerektiği ve implantasyon sırasında düşük H-hCG oranının gebelik başarısızlığını öngörebileceği sonucuna varmışlar.(8)

Çalışmamızda dışlama kriterlerimiz arasında olan IVF gebelik mevcut olmasına rağmen Brady ve ark., IFV'den sonra blastokist transferi ile hamile kalan 115 kadından oluşan bir seriyi bildirmişlerdir. H-hCG'nin gebeliğin seyrinin sağlıklı devam edip etmeyeceğini öngörmesini değerlendirmek için transferden on bir gün sonra serum H-hCG oranını ölçmüşler. Seksen beş gebelik devam etmiş ve otuz gebelik başarısız olmuştur. Bu yazarlar, ortalama H-hCG'nin ve bunun toplam hCG'ye oranının, devam eden gebeliklerde, başarısız gebeliklere kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğunu bulmuşlardır.(41)

Benzer çalışmalarda da görüldüğü üzere H-hCG'nin TGF beta üzerinden hücresel regülasyona etki edip sitotrofoblastik hücrelerde hücre yıkımını azaltarak sitotrofoblastik hücrelerin büyümesini ve invazyonunu uyararak gebeliğin implantasyonunda önemli bir rol oynadığı düşünüyoruz. Bu

sebeple Tablo 4’de görüldüğü gibi gebeliği birinci trimester sonuna kadar sağlıklı giden gebelerde total hCG, H-hCG ve total hCG/ H-hCG değerlerinin ortalamasının gebeliği sağlıksız gidip sonlanan gebeliklerdeki değer ortalamalarından daha yüksek olduğunu istatistiksel olarak anlamlı bulduk ($p<0.05$). Demografik verilerimizden sağlıklı gebeliği olan hastaların yaş, gebelik sayısı ve parite değerlerinin ortalaması sağlıklı gebeliği olmayan hastalardan daha düşüktür($p<0.05$). Ancak sağlıklı gebeliği olan ve olmayan hastaların BMI, abort sayıları arasında anlamlı farklılık yoktur ($p>0.05$). Çalışmamıza katılanlardan gebeliği sağlıklı seyredenlerin yaş ortalamaları $25,74\pm 4,02$, gebelikleri sağlıksız seyredip sonlananların yaş ortalamaları $29,02\pm 6,69$ ’tir ve bu istatistiksel olarak anlamlı bulmuşken; Salas ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada sağlıksız seyredenlerin ortalama yaşı 35.1 iken sağlıklı seyredenlerin yaş ortalaması 33.0 olarak belirtilmiş ve de istatistiksel olarak anlamsız çıkmıştır.(42)

Gebeliğin implantasyon döneminde serum H-hCG değerinin en yüksek orana sahip olduğu gösterilmiştir.(27) Bu sebeple bu dönem serumda bakılan H-hCG’nin gebeliğin seyri konusundaki predikte edici değer olduğunu göstermek için en uygun zaman olduğunu düşünmekteyiz.

6. SONUÇ

Erken dönem gebelik kayıpları, tüm gebelik kayıplarının %75’ini oluşturan ve toplumdaki kadınların %33’ünü etkileyen tüm toplumu ilgilendiren ve etkileyen bir problem haline gelmiştir. Gebelik testi değeri pozitif olduğunu öğrendikten sonra fetal kalp atımı henüz tespit edilememiş ve özellikle bir şikayeti olan gebeler büyük endişe ile gebelik sürecine başlamış olurlar. Bu ise hastaların anksiyetelerini yatıştırmak için gereğinden fazla hastane hizmeti başvurusuna yol açarak devlete büyük bir sağlık harcamalarına neden olmaktadır. Yaptığımız bu çalışmada gebelik şüphesiyle başvuran herhangi bir şikayeti olmayan ve henüz implantasyon döneminde olan hastalardan alınan kanda bakılan H-hCG’nin birinci trimester sonuna kadarki prognozu hakkında

fikir vererek hastaların gebelik seyirleriyle ilgili önceden fikir sahibi olabilmelerini, gebelikleriyle ilgili önceden belirlenmiş olumlu ya da olumsuz bir senaryo belirleyerek hastaların anksiyetelerini baskılayarak gereksiz sağlık harcamalarının önüne geçilmesini amaçladık. Bu amaçla çalışmamızda toplamda 89 gebe takip edildi ve sonuçları literatür ile karşılaştırıldı.

Sağlıklı gebeliği olan hastaların total hCG, H-hCG ve total hCG/ H-hCG oranı ölçümleri arasında anlamlı farklılık elde edilmiştir ($p<0.05$). Buna göre yaptığımız çalışmada sağlıklı gebeliği olan hastaların total hCG, H-hCG ve total hCG/ H-hCG değerlerinin ortalaması sağlıklı gebeliği olmayan hastalardan daha yüksek çıkması H-hCG'nin gebelik prognozunda önemli bir belirteç olacağını düşündürmektedir. Çalışmamız sadece birinci trimester sonuna kadar ki takibi kapsamakta olup daha önce belirtmiş olduğumuz gibi H-hCG'nin yapılan farklı çalışmalarda gösterilmiştir ki 2. trimester preeklampsi predikasyonu, 3. trimesterde gebeliğin hipertansif hastalıklarının predikasyonu, koryokarsinom ve trofoblastik hastalıkların öngörülmesi için de etkili bir prediktif değer olarak kabul edileceği düşünülmektedir.

Bu anlamda çalışmamız tek merkezli prostektif ve kısa bir dönemi kapsamaktadır. H-hCG ile ilgili çok merkezli, prospektif, daha geniş örneklemler ve uzun dönem takip çalışmalarına ihtiyaç vardır. H-hCG ile alakalı benzer akademik çalışmaların artırılması ve daha çok sayıda gebenin katılımının sağlanmasıyla, gebelik prognozunun daha erken tespit edilmesi, predikasyon değerlerinin geliştirilmesi sağlanabilir. Ayrıca ultrason gibi kullanıcıya bağlı öznel olma durumu azaltılarak ve objektif tanı araçları ile prediktif değerler elde edilerek, yasal sorunların azaltılabileceği gibi, ailelerin anksiyeteleri, hastane başvuruları ve sağlık masraflarının da azaltılması sağlanabilir.

7. KAYNAKÇA

1. Bree R, Edwards M, Bohm-Velez M, Beyler S, Roberts J, Mendelson E. Transvaginal sonography in the evaluation of normal early pregnancy: correlation with HCG level. *American Journal of Roentgenology*. 1989 Jul 1;153(1):75–9.
2. Lavoué V, Huchon C, Deffieux X, Voltzenlogel MC, Vandenbroucke L, Levêque J. [French guidelines for diagnostic criteria for nonviable pregnancy early in the first trimester and for management of threatened miscarriage and nonviable pregnancy (except uterine evacuation)]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2014 Dec;43(10):776–93.
3. Allen R, Lee A, Hanuscin C, Gleyzer A. Missed abortion with negative biomarkers. *Am J Emerg Med*. 2022 Jul;57:236.e5-236.e6.
4. Doubilet PM, Benson CB, Bourne T, Blaivas M, Society of Radiologists in Ultrasound Multispecialty Panel on Early First Trimester Diagnosis of Miscarriage and Exclusion of a Viable Intrauterine Pregnancy, Barnhart KT, et al. Diagnostic criteria for nonviable pregnancy early in the first trimester. *N Engl J Med*. 2013 Oct 10;369(15):1443–51.
5. Norwitz ER, Schust DJ, Fisher SJ. Implantation and the survival of early pregnancy. *N Engl J Med*. 2001 Nov 8;345(19):1400–8.
6. Cole LA. Hyperglycosylated hCG and pregnancy failures. *J Reprod Immunol*. 2012 Mar;93(2):119–22.
7. Evans J. Hyperglycosylated hCG: a Unique Human Implantation and Invasion Factor. *Am J Reprod Immunol*. 2016 Mar;75(3):333–40.
8. Sasaki Y, Ladner DG, Cole LA. Hyperglycosylated human chorionic gonadotropin and the source of pregnancy failures. *Fertil Steril*. 2008 Jun;89(6):1781–6.
9. Evans J, Salamonsen LA, Menkhorst E, Dimitriadis E. Dynamic changes in hyperglycosylated human chorionic gonadotrophin throughout the first trimester of pregnancy and its role in early placentation. *Hum Reprod*. 2015 May;30(5):1029–38.
10. Berndt S, Blacher S, Munaut C, Dettileux J, Perrier d’Hauterive S, Huhtaniemi I, et al. Hyperglycosylated human chorionic gonadotropin stimulates angiogenesis through TGF- β receptor activation. *FASEB J*. 2013 Apr;27(4):1309–21.
11. Kovalevskaya G, Birken S, Kakuma T, Ozaki N, Sauer M, Lindheim S, et al. Differential expression of human chorionic gonadotropin (hCG) glycosylation isoforms in failing and continuing pregnancies: preliminary characterization of the hyperglycosylated hCG epitope. *J Endocrinol*. 2002 Mar;172(3):497–506.
12. Rossant J, Tam PPL. Early human embryonic development: Blastocyst formation to gastrulation. *Dev Cell*. 2022 Jan;57(2):152–65.
13. O’Rahilly R, Müller F. Developmental stages in human embryos: revised and new measurements. *Cells Tissues Organs*. 2010;192(2):73–84.
14. Herghelegiu CG, Veduta A, Stefan MF, Magda SL, Ionascu I, Radoi VE, et al. Hyperglycosylated-hCG: Its Role in Trophoblast Invasion and Intrauterine Growth Restriction. *Cells*. 2023 Jun 16;12(12):1647.
15. Fritz, MA, Speroff L. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*, Eighth Edition. 2011, Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, USA. S:1,C:8,P:269-331. In.
16. Cole LA. hCG, the wonder of today’s science. *Reprod Biol Endocrinol*. 2012 Mar 28;10:24.

17. Elliott MM, Kardana A, Lustbader JW, Cole LA. Carbohydrate and peptide structure of the alpha- and beta-subunits of human chorionic gonadotropin from normal and aberrant pregnancy and choriocarcinoma. *Endocrine*. 1997 Aug;7(1):15–32.
18. Butler SA, Ikram MS, Mathieu S, Iles RK. The increase in bladder carcinoma cell population induced by the free beta subunit of human chorionic gonadotrophin is a result of an anti-apoptosis effect and not cell proliferation. *Br J Cancer*. 2000 May;82(9):1553–6.
19. Cole LA, Butler S. Hyperglycosylated hCG, hCG β and Hyperglycosylated hCG β : interchangeable cancer promoters. *Mol Cell Endocrinol*. 2012 Feb 26;349(2):232–8.
20. Cole LA, Dai D, Butler SA, Leslie KK, Kohorn EI. Gestational trophoblastic diseases: 1. Pathophysiology of hyperglycosylated hCG. *Gynecol Oncol*. 2006 Aug;102(2):145–50.
21. Reshef E, Lei ZM, Rao C V, Pridham DD, Chegini N, Luborsky JL. The presence of gonadotropin receptors in nonpregnant human uterus, human placenta, fetal membranes, and decidua. *J Clin Endocrinol Metab*. 1990 Feb;70(2):421–30.
22. Cole LA, Shahabi S, Oz UA, Bahado-Singh RO, Mahoney MJ. Hyperglycosylated human chorionic gonadotropin (invasive trophoblast antigen) immunoassay: A new basis for gestational Down syndrome screening. *Clin Chem*. 1999 Dec;45(12):2109–19.
23. Sasaki Y, Ladner DG, Cole LA. Hyperglycosylated human chorionic gonadotropin and the source of pregnancy failures. *Fertil Steril*. 2008 Jun;89(6):1781–6.
24. Cole LA, Dai D, Butler SA, Leslie KK, Kohorn EI. Gestational trophoblastic diseases: 1. Pathophysiology of hyperglycosylated hCG. *Gynecol Oncol*. 2006 Aug;102(2):145–50.
25. Palomaki GE, Neveux LM, Haddow JE, Wyatt P. Hyperglycosylated-hCG (h-hCG) and Down syndrome screening in the first and second trimesters of pregnancy. *Prenat Diagn*. 2007 Sep;27(9):808–13.
26. Bahado-Singh RO, Oz AU, Kingston JM, Shahabi S, Hsu CD, Cole L. The role of hyperglycosylated hCG in trophoblast invasion and the prediction of subsequent pre-eclampsia. *Prenat Diagn*. 2002 Jun;22(6):478–81.
27. Cole LA. New discoveries on the biology and detection of human chorionic gonadotropin. *Reprod Biol Endocrinol*. 2009 Jan 26;7:8.
28. Bjercke S, Tanbo T, Dale PO, Mørkrid L, Abyholm T. Human chorionic gonadotrophin concentrations in early pregnancy after in-vitro fertilization. *Hum Reprod*. 1999 Jun;14(6):1642–6.
29. Norwitz ER, Schust DJ, Fisher SJ. Implantation and the survival of early pregnancy. *N Engl J Med*. 2001 Nov 8;345(19):1400–8.
30. Cole LA, Sutton JM, Higgins TN, Cembrowski GS. Between-method variation in human chorionic gonadotropin test results. *Clin Chem*. 2004 May;50(5):874–82.
31. Hamada AL, Nakabayashi K, Sato A, Kiyoshi K, Takamatsu Y, Laoag-Fernandez JB, et al. Transfection of antisense chorionic gonadotropin beta gene into choriocarcinoma cells suppresses the cell proliferation and induces apoptosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005 Aug;90(8):4873–9.
32. Sutton-Riley JM, Khanlian SA, Byrn FW, Cole LA. A single serum test for measuring early pregnancy outcome with high predictive value. *Clin Biochem*. 2006 Jul;39(7):682–7.
33. Cole LA. Hyperglycosylated hCG, a review. *Placenta*. 2010 Aug;31(8):653–64.
34. Doubilet PM, Benson CB, Bourne T, Blaivas M, Society of Radiologists in Ultrasound Multispecialty Panel on Early First Trimester Diagnosis of Miscarriage and Exclusion of a

- Viable Intrauterine Pregnancy, Barnhart KT, et al. Diagnostic criteria for nonviable pregnancy early in the first trimester. *N Engl J Med*. 2013 Oct 10;369(15):1443–51.
35. Dogra V, Paspulati RM, Bhatt S. First trimester bleeding evaluation. *Ultrasound Q*. 2005 Jun;21(2):69–85; quiz 149–50, 153–4.
 36. Chaudhry K, Tafti D, Carlson K, Siccardi MA. Anembryonic Pregnancy. 2024.
 37. Macklon NS, Geraedts JPM, Fauser BCJM. Conception to ongoing pregnancy: the “black box” of early pregnancy loss. *Hum Reprod Update*. 2002;8(4):333–43.
 38. Webster K, Eadon H, Fishburn S, Kumar G, Guideline Committee. Ectopic pregnancy and miscarriage: diagnosis and initial management: summary of updated NICE guidance. *BMJ*. 2019 Nov 13;367:16283.
 39. Kovalevskaya G, Birken S, Kakuma T, Ozaki N, Sauer M, Lindheim S, et al. Differential expression of human chorionic gonadotropin (hCG) glycosylation isoforms in failing and continuing pregnancies: preliminary characterization of the hyperglycosylated hCG epitope. *J Endocrinol*. 2002 Mar;172(3):497–506.
 40. Sutton-Riley JM, Khanlian SA, Byrn FW, Cole LA. A single serum test for measuring early pregnancy outcome with high predictive value. *Clin Biochem*. 2006 Jul;39(7):682–7.
 41. Brady PC, Farland L V, Racowsky C, Ginsburg ES. Hyperglycosylated human chorionic gonadotropin as a predictor of ongoing pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 2020 Jan;222(1):68.e1-68.e12.
 42. Salas A, Gastón B, Barrenetxea J, Sendino T, Jurado M, Alcázar JL. Predictive value of hyperglycosylated human chorionic gonadotropin for pregnancy outcomes in threatened abortion in first-trimester viable pregnancies. *An Sist Sanit Navar*. 2021 Apr 28;44(1):23–31.