

The relationship between pregnancy Associated-Plasma-Protein-A (PAPP-A) and free- β -human chorionic gonadotropin (β hCG) levels in the first trimester and pregnancy complications

Marzieh Espid¹, Ali Davati², Ahia Garshasbi^{3*}

1. Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran
2. Department of Social Medicine and Medical Ethics, Shahed University, Tehran, Iran
3. Department of Gynecology and Obstetrics, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran

* Corresponding author e-mail: Dr.Garshasbi@gmail.com

Citation: Espid M, Davati A, Garshasbi A. The relationship between pregnancy Associated-Plasma-Protein-A (PAPP-A) and free- β -human chorionic gonadotropin (β hCG) levels in the first trimester and pregnancy complications. Daneshvar Medicine 2021; 29(5):1-13. doi: 10.22070/DANESHMED.2021.14822.1102

Abstract

Background and Objective: The association between screening markers in the first trimester of pregnancy and an increased risk of pregnancy complications has been reported. The aim of this study was to determine the relationship between serum levels of PAPP-A and free β hCG in the first trimester with pregnancy complications.

Materials and Methods: During a prospective study on 200 pregnant women referred to Shahid Mostafa Khomeini Hospital in Tehran from July 2020 to March 2021, due to anoploid screening in the first trimester at 11-14 weeks, serum levels of PAPP-A and free β -hCG were measured. After providing the information, written consent was obtained and demographic and pregnancy information and test results were recorded. All subjects were followed up until delivery. Weight at birth and in case of abortion, preterm delivery, gestational diabetes, preeclampsia, information was recorded. The relationship between PAPP-A and β hCG in the first trimester with pregnancy complications was statistically analyzed using Fisher's exact test.

Results: 18.5% (n=37) had gestational diabetes, 9.5% (n=19) had preeclampsia, 5% (n=10) had preterm labor, and 1.5% (n=3) had abortion. There was no statistically significant relationship between PAPP-A with gestational diabetes (P=0.782), preeclampsia (P=0.059), preterm delivery (P=0.350) and low birth weight (P=1.000). Between serum β -hCG level and gestational diabetes (P=0.271), preeclampsia (P=0.365) and preterm delivery (P=1.000) and low birth weight (P=0.241), statistically significant relationship does not exist.

Conclusion: There is no significant relationship between serum PAPP-A and β hCG levels with preeclampsia, gestational diabetes, preterm delivery and low birth weight.

Keywords: β -hCG, PAPP-A, Pregnancy complications, Preterm delivery, Gestational diabetes, preeclampsia

Received: 29 May 2021
Last revised: 02 Oct 2021
Accepted: 15 Nov 2021

ارتباط سطح سرمی پروتئین پلاسمایی A مرتبط با بارداری (PAPP-A) و گنادوتروپین کوریونی β انسانی آزاد (β hCG) سه ماهه اول با عوارض بارداری

نویسندگان: مرضیه اسپید^۱، علی دواتی^۲، احیا گرشاسبی^{۳*}

۱. دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۲. گروه پزشکی اجتماعی و اخلاق پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۳. گروه زنان، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

Email: Dr.Garshasbi@gmail.com

*نویسنده مسئول: احیا گرشاسبی

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه و هدف: ارتباط بین مارکرهای غربالگری سه ماهه اول بارداری با افزایش خطر ابتلا به عوارض بارداری گزارش شده است. این مطالعه با هدف تعیین ارتباط سطح سرمی PAPP-A و β hCG آزاد سه ماهه اول با عوارض بارداری پژوهش انجام شد.

مواد و روش ها: این مطالعه آینده نگر روی ۲۰۰ مادر باردار مراجعه کننده به بیمارستان شهید مصطفی خمینی تهران از مرداد ماه ۱۳۹۹ تا فروردین ۱۴۰۰ که به دلیل غربالگری آنوپلوئیدی سه ماهه اول در ۱۱-۱۴ هفته، اندازه گیری سطح سرمی PAPP-A و β -hCG آزاد انجام شد. پس از اخذ رضایت نامه کتبی، اطلاعات دموگرافیک و بارداری، نتایج آزمایشات ثبت و تا زمان زایمان پیگیری شدند. وزن زمان تولد نوزاد و سرنوشت بارداری شامل سقط، زایمان زودرس، دیابت بارداری، پره اکلامپسی ثبت شد. با روش های آماری توصیفی و آزمون های تحلیلی تی تست، فیشر، من ویتنی، همبستگی و کای دو نسبت به تعیین ارتباط بین متغیرها اقدام شد.

نتایج: ۱۸/۵٪ (۳۷ نفر) دیابت بارداری، ۹/۵٪ (۱۹ نفر) پره اکلامپسی، ۵٪ (۱۰ نفر) زایمان زودرس و ۱/۵٪ (۳ نفر) سقط داشتند. بین PAPP-A با دیابت بارداری ($P=0/782$)، پره اکلامپسی ($P=0/059$)، زایمان زودرس ($P=0/350$) و وزن کم زمان تولد ($P=1/000$) ارتباط معنادار آماری مشاهده نشد. بین میزان β -hCG سرم با دیابت بارداری ($P=0/271$)، پره اکلامپسی ($P=0/365$) و زایمان زودرس ($P=1/000$) و وزن کم نوزاد بدو تولد ($P=0/241$)، ارتباط آماری وجود نداشت.

نتیجه گیری: بین سطح سرمی PAPP-A و β -hCG آزاد با پره اکلامپسی، دیابت بارداری، زایمان زودرس و وزن کم بدو تولد نوزاد ارتباط مشخص وجود ندارد.

واژه های کلیدی: بتاگنادوتروپین کوریونی انسانی، پروتئین پلاسمایی A بارداری، عوارض بارداری، زایمان زودرس، دیابت بارداری، پره اکلامپسی

دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۰۸
آخرین اصلاح ها: ۱۴۰۰/۰۷/۱۰
پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۲۴

مقدمه

ارتباط معنی داری وجود نداشت (۲۰). در مطالعه دیگری نیز نتیجه گرفتند سطح β hCG در افراد دچار پره‌اکلامپسی بالاتر از افراد سالم است و با افزایش شدت پره‌اکلامپسی، میزان سرمی β hCG بالاتر می‌رود (۲۱). علیرغم تمام این یافته‌ها هنوز اطلاعات متناقضی در این باره وجود دارد. همچنین، بیشتر مطالعات انجام شده در کشورهای توسعه یافته، به ویژه کشورهای اروپایی و آمریکایی انجام شده است. لذا با هدف ارزیابی ارتباط بین سطوح سرمی مادران PAPP-A و β -hCG آزاد و عوارض بارداری این مطالعه طراحی شد.

مواد و روش‌ها

طی یک مطالعه آینده نگر، از تعداد ۲۰۰ خانم باردار تک قلو در سه ماهه اول بارداری بدون سابقه: دیابت آشکار (نوع یک یا دو)، فشارخون مزمن، جنین دارای ناهنجاری‌های کروموزومی و مادرزادی، مراجعه کننده به درمانگاه بیمارستان شهید مصطفی خمینی که آزمایشات غربالگری سه ماهه ابتدایی بارداری (قبل از ۱۴ هفته) شامل میزان β -hCG آزاد و PAPP-A را انجام داده بودند، پس از ارائه اطلاعات در مورد طرح پژوهشی رضایت نامه کتبی گرفته شد. بعد از ورود به مطالعه اطلاعات دموگرافیک اولیه شامل سن، وزن، قد، تعداد بارداری، سن حاملگی زمان زایمان و وزن زمان تولد نوزاد در پرسشنامه ثبت شد. جهت تمام شرکت کنندگان در سن حاملگی ۱۱ تا ۱۴ هفته به دلیل تست غربالگری سه ماهه اول میزان β -hCG آزاد و PAPP-A انجام دادند. پس از ثبت نتیجه آزمایش، مادران باردار تا پایان حاملگی جهت انجام مراقبت‌های بارداری مراجعه نمودند و پیگیری شدند. سقط ختم بارداری به صورت خود به خود قبل از هفته ۲۰ بارداری و زایمان زودرس به صورت سن حاملگی کمتر از ۳۷ هفته در زمان زایمان در نظر گرفته شد. پره‌اکلامپسی با وجود فشار خون سیستمیک مساوی یا بالاتر از ۱۴۰ میلی‌متر جیوه و دیاستولیک ۹۰ میلی‌متر جیوه و پروتئینوری که به صورت ترشح بیش از ۳۰۰ میلی‌گرم پروتئین در ادرار ۲۴ ساعته یا نسبت پروتئین به کراتینین ادراری بیش تر یا مساوی ۰/۳ یا وجود ۳۰ میلی‌گرم

مارکر PAPP-A یک آنزیم متالو پپتیدازی است که از سلول‌های تروفوبلاستیک جفت به ویژه تروفوبلاست‌های خارج پرسی ترشح می‌شود. سطح آن در هفته‌های ۱۱ تا ۱۳ با شبیهی نسبتاً تند افزایش می‌یابد. زنان بارداری که سطح PAPP-A آنان در هفته‌های ۱۱ تا ۱۴ بارداری کمتر از میزان مورد انتظار باشد، احتمال ابتلاء جنین آنها به سندرم داون بالاتر است (۱). این مارکر در اتصال پروتئین ۴ به فاکتور رشد شبه انسولین نقش دارد و اگر سطح آن ناکافی باشد فاکتور رشد شبه انسولینی به صورت آزاد و غیر فعال باقی می‌ماند و با کاهش رشد در جنین و جفت همراه خواهد بود (۲). Free β hCG زیر واحد بتای آزاد هورمون hCG است که از سلول‌های تروفوبلاست ترشح می‌شود. سطح Free β hCG خون مادر نظیر سطح hCG در بارداری‌های توأم با سندرم داون تمایل به افزایش نشان می‌دهد (۱). امروزه یکی از مؤثرترین روشهای غربالگری بیماری‌های کروموزومی در دوران بارداری، ترکیبی از NT جنینی و β -hCG و PAPP-A سرم در هفته‌های ۱۴-۹ بارداری است (۳-۵). همچنین پیشنهاد شده است که PAPP-A و β -hCG قادر به پیش بینی برخی از عوارض بارداری هستند (۶-۹). مطالعات متعدد نشان داده اند که سطوح سرمی پایین PAPP-A در سه ماهه اول با افزایش خطر ابتلا به عوارض بارداری مانند وزن کم هنگام تولد (۱۰)، زایمان زودرس (۱۱)، مرده زایی (۱۲)، سقط جنین (۱۳) و بارداری با فشار خون بالا (۱۴-۱۵) مرتبط بوده است. در مطالعه بصیرت و همکاران که در اصفهان انجام شد بین سطوح سرمی PAPP-A و بروز IUGR، زایمان زودرس و PIH ارتباط وجود داشت (۱۶). در مطالعه سمیه رمضانی و همکاران نیز ابتلاء به دیابت بارداری با کاهش PAPP-A به میزان معنی داری بالاتر از گروه کنترل بود (۱۷). اما در مطالعه ی دیگری بین افزایش سطح سرمی PAPP-A و عوارض بارداری ارتباط وجود نداشته است (۱۸). همچنین ارتباط مشابهی در مورد سطح سرمی پایین β -hCG آزاد نیز با عوارض بارداری دیده شده است که با این حال تنها یافته مرتبط، افزایش خطر ابتلا به سقط جنین در این بیماران بوده است (۱۹). اما در مطالعه اصفهان بین سطح β hCG و عوارض بارداری

انحراف معیار ۳/۷۳ بود. حداقل تعداد بارداری در مادران مورد مطالعه یک و حداکثر ۶ با میانگین ۲/۰۸ با انحراف معیار ۱/۰۱ بود. ۸۱ نفر (۴۰/۵٪) بارداری دوم، ۶۴ نفر (۳۲٪) بارداری اول و ۵۵ نفر (۲۷/۵٪) بارداری سوم و بیشتر بودند. حداقل سن ختم بارداری در مادران مورد مطالعه ۱۳ هفته و حداکثر ۴۱ هفته بود. بیشترین فراوانی سن ختم بارداری به ترتیب ۴۱/۵٪ (۸۳ نفر)، ۳۸ هفته، ۳۵٪ (۷۰ نفر)، ۳۹ هفته با درصد فراوانی، ۴۰ هفته ۱۶ نفر با درصد فراوانی ۸/۱٪، ۴۱ هفته ۳ نفر با درصد فراوانی ۱/۵٪ می باشد. میانگین سن ختم بارداری در مادران مورد مطالعه ۳۷/۹۸ با انحراف معیار ۳/۱۷ می باشد. حداقل وزن بدو تولد نوزادان ۱۶۰۰ گرم و حداکثر ۵۱۰۰ گرم با میانگین ۳۲۳۱/۳۲ گرم با انحراف معیار ۴۸۴/۷۰ بود. ۶/۵٪ نوزادان وزن بدو تولد کمتر از ۲۵۰۰ گرم و ۱٪ وزن بیشتر از ۴۵۰۰ گرم داشتند. فراوانی و درصد فراوانی عوارض بارداری در بارداری کنونی در مادران مورد مطالعه در جدول ۱ آمده است.

پروتئین در نمونه ادراری تصادفی تعریف شد. در صورت بروز سقط، دیابت بارداری، پره اکلامپسی و زایمان زودرس اطلاعات ثبت شد. این پژوهش با کد اخلاقی IR.SHAHED.REC.1399.015 توسط کمیته اخلاق در پژوهش های زیست پزشکی دانشگاه شاهد تصویب شد.

تجزیه و تحلیل آماری

در پایان داده های بارداری و میزان β -hCG آزاد و PAPP-A در نرم افزار آماری SPSS 21 وارد و نتایج تجزیه و تحلیل آماری شد. به کمک روش های آماری توصیفی و آزمون های تحلیلی تی تست، فیشر، من ویتنی، همبستگی و کای دو نسبت به تعیین ارتباط بین متغیرها اقدام گردید.

نتایج

حداقل سن مادران مورد مطالعه ۱۸ سال و حداکثر ۴۴ سال با میانگین ۳۱/۵۱ با انحراف معیار ۵/۴۳ بوده است. حداقل شاخص توده بدنی مادران ۱۷/۵ کیلوگرم بر مترمربع و حداکثر ۳۸/۵ کیلوگرم بر مترمربع با میانگین ۲۴/۸۴

جدول ۱. فراوانی عوارض بارداری در بارداری کنونی در مادران مورد مطالعه

عارضه بارداری	فراوانی	درصد فراوانی٪
پره اکلامپسی	بله	۱۹
	خیر	۱۸۱
دیابت بارداری	بله	۳۷
	خیر	۱۶۰
زایمان زودرس (بین ۲۰ تا ۳۷ هفته)	بله	۱۰
	خیر	۱۸۷
سقط (قبل از هفته ۲۰)	بله	۳
	خیر	۱۹۷

توزیع پراکندگی نتیجه آزمون غربالگری سه ماهه اول بر حسب MOM در جدول ۲ آمده است.

حداکثر PAPP-A در افراد مورد مطالعه ۴/۸۷ و حداقل PAPP-A 35/0 و حداکثر β -hCG آزاد در افراد مورد مطالعه ۲/۷ و حداقل ۰/۳۳ بدست آمد.

جدول ۲. توزیع پراکندگی نتیجه آزمون غربالگری اول برحسب MOM (با نقطه برش ۰/۵)

درصد فراوانی	فراوانی	نتیجه کیفی PAPP-A
۱۲	۲۴	(\geq MOM) ۰/۵
۸۸	۱۷۶	($<$ MOM) ۰/۵
درصد فراوانی	فراوانی	نتیجه کیفی β hCG
۶,۵	۱۳	(\geq MOM) ۰/۵
۹۳/۵	۱۸۷	($<$ MOM) ۰/۵

پره اکلامپسی ($p=0.36$) (0/1-1/15) RR=0/25-CI 95%
 وزن کم هنگام تولد ($p=0.241$)، زایمان زودرس
 RR=1/6- CI 95% (0/6-2/5) RR=1/6- CI 95%
 بروز سقط ارتباط معنی داری ندارد ($p=1.000$). همچنین آزمون
 فیشر نشان داد که β hCG با بروز دیابت بارداری
 ($p=0.271$) (0/8-2/4) RR=1/67-CI 95%
 بروز پره اکلامپسی ($p=0.365$) (07-2/3) RR=1/5-CI 95%
 وزن کم هنگام تولد ($p=0.241$) (06-8/3) RR=4/8-CI 95%
 بروز زایمان زودرس ($p=1.000$)، بروز سقط ($p=1.000$)
 ارتباط معنی داری ندارد. بنابراین لذا فرضیه صفر رد نگردید.

وضعیت ارتباط PAPP-A و β hCG با عوارض بارداری
 در مادران شرکت کننده در مطالعه در جدول ۳ نشان داده
 شده است. جهت همگن سازی از آزمون دقیق فیشر
 استفاده شد:
 فرضیه صفر: متغیر PAPP-A و β hCG در گروه ها
 همگن است.
 فرضیه یک: متغیر β hCG و PAPP-A در گروه ها همگن
 نیست.
 آزمون فوق نشان داد که PAPP-A با بروز دیابت بارداری
 ($p=0.271$) (0/9-1/2) RR=1/08- CI 95% و بروز

جدول ۳. ارتباط سطح سرمی PAPP-A و β hCG با عوارض بارداری

		β hCG				PAPP-A		عارضه بارداری
RR 95%CI	P value	MOM>0.5 (n = 187)	0.5 MOM≤ (n = 13)	RR 95%CI	P value	0.5 MOM> (n = 176)	0.5 MOM≤ (n = 24)	
دیابت بارداری								
1/67 0.18-2/4	0.271	(0.16/8)33	(0.2) 4	1/0.8 0.9-1/2	0.782	(0.16/2)32	(0.2/5) 5	بله (n = 37)
		151 (0.76/6)	(0.4/6)9			141 (0.71/6)	(0.9/6)19	خیر (n = 160)
پره اکلامپسی								
1/5 0.7-2/3	0.365	(0.8/5)17	(0.1) 2	0/25 0.1-1/1	0.059	(0.7)14	(0.2/5)5	بله (n = 19)
		(0.85) 170	(0.5/5) 11			(0.81) 162	(0.9/5)19	خیر (n = 181)
زایمان زودرس								
-	1/000	(0.5/1)10	(0.0) 0	1/6 0.6-2/5	0.350	(0.4/1)8	(0.1) 2	بله (n = 10)
		(0.88/3)174	(0.6/6)13			165 (0.83/8)	(0.11/2)22	خیر (n = 187)
سقط								
-	1/000	(0.1/5)3	(0.0) 0	-	1/000	3 (0.1/5)	(0.0) 0	بله (n = 3)
		(0.92) 184	(0.6/5) 13			(0.86/5) 173	(0.12) 24	خیر (n = 197)
وزن کم نوزاد بدو تولد								
4/8 0.6-8/3	0.241	(0.1/5)3	(0.0/5)1	-	1/000	(0.2) 4	(0.0) 0	بله (n = 4)
		181 (91%/9)	12 (0.6/1)			(0.85/8) 169	24 (0.12/2)	خیر (n = 193)

بحث

سطح PAPP-A آنان در هفته‌های ۱۱ تا ۱۴ بارداری کمتر از میزان مورد انتظار باشد، احتمال ابتلاء جنین آنها به سندرم داون بالاتر است. این مارکر در اتصال پروتئین ۴ به فاکتور رشد شبه انسولین نقش دارد و اگر سطح آن ناکافی

مارکر PAPP-A یک آنزیم متالوپپتیدازی است که از سلول‌های تروفوبلاستیک جفت به ویژه تروفوبلاست‌های خارج پرزی ترشح می‌شود. سطح آن در هفته‌های ۱۱ تا ۱۳ با شیئی نسبتاً تند افزایش می‌یابد. زنان بارداری که

دیابت بارداری یافتند (۲۳). لواتی و همکاران دریافتند که سطح پایین PAPP-A بطور قدرتمندی با دیابت بارداری ارتباط دارد و سطوح پایین تر آن در زنان دیابتی نیازمند به درمان با انسولین مشاهده می شود (۲۴). همچنین فارینا و همکاران نیز دریافتند که سطح Mom PAPP-A بصورت معناداری در گروه مبتلا به دیابت بارداری در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافته بود (۲۵). گورام و همکاران با مطالعه روی ۶۷۴۱ باردار، کاهش ۱۲ درصدی در میزان Mom PAPP-A مادران مبتلا به دیابت پیش از بارداری تحت درمان با انسولین در مقایسه با گروه کنترل غیر دیابتی گزارش کردند (۲۶). دونووان و همکاران با مرور مطالعات روی ۵۱ مطالعه کوهورت نیز گزارش کردند که زنان مبتلا به دیابت بارداری نسبت به مادران سالم سطح پایین تری از PAPP-A در سه ماهه اول بارداری دارند (۲۷). زیائو و همکاران بین دو گروه مبتلا به دیابت بارداری و مادران سالم تغییرات معناداری را در Mom PAPP-A مشاهده کردند و بیان کردند که در زنان باردار چینی سطح PAPP-A یک ریسک-فاکتور مستقل برای ابتلا به دیابت بارداری می باشد (۲۸). مطالعه گذشته‌نگر Visconti و همکاران روی ۲۴۱۰ زن باردار نیز نشان داد $\text{Mom PAPP-A} < 1$ با افزایش خطر دیابت بارداری همراه است (۲۹). به نظر می رسد از مهم ترین عوامل تفاوت در نتایج مطالعات مختلف، تعداد نمونه های مورد بررسی در هر مطالعه است به گونه ای که با افزایش حجم نمونه، ارتباط معناداری بین میزان PAPP-A با دیابت بارداری قابل مشاهده بوده است. همچنین ممکن است شدت عوارض بارداری در مطالعات مختلف متفاوت باشد، بطور مثال شدت دیابت بارداری با نسبت زنان مبتلا به GDM که نیازمند درمان انسولین هستند، مشخص می شود. لواتی نشان داد که زنان مبتلا به GDM نیازمند درمان با انسولین در مقایسه با زنان مبتلا به GDM که تحت رژیم غذایی قرار گرفتند دارای PAPP-A بسیار پایین تری بودند (۲۴). فراوانی پایین مادران نیازمند به درمان انسولین در مطالعه حاضر (۴ نفر در ۳۷ نفر مبتلا به دیابت بارداری) ممکن است توضیح دهد که چرا جمعیت مورد مطالعه ما در طی سه ماهه اول، تغییراتی در PAPP-A نشان نداده است. علاوه بر این تفاوت های نژادی

باشد فاکتور رشد شبه انسولینی به صورت آزاد و غیر فعال باقی می ماند و با کاهش رشد در جنین و جفت همراه خواهد بود. $\text{Free } \beta \text{ hCG}$ زیرواحد بتای آزاد هورمون hCG است که از سلول های تروفوبلاست ترشح می شود. سطح $\text{Free } \beta \text{ hCG}$ خون مادر نظیر سطح hCG در بارداری های توأم با سندرم داون تمایل به افزایش نشان می دهد. امروزه یکی از مؤثرترین روشهای غربالگری بیماری های کروموزومی در دوران بارداری، ترکیبی از NT جنینی و ارزیابی سطح سرمی $\beta \text{ hCG}$ و PAPP-A در هفته های ۹-۱۴ بارداری است. علاوه بر این پیشنهاد شده است که PAPP-A و $\beta \text{ hCG}$ قادر به پیش بینی برخی از عوارض بارداری هستند (۹-۶). مطالعه حال حاضر روی ۲۰۰ مادر باردار که جهت مراقبت بارداری به درمانگاه زنان بیمارستان شهید مصطفی خمینی شهر تهران مراجعه کرده بودند، انجام شد.

ارتباط PAPP-A و عوارض بارداری

براساس مطالعه حاضر ۱۲٪ از مادران، میزان PAPP-A پایین تر از نقطه برش ۵/۰ داشتند ($\text{MOM} \leq 0/5$) که از این میزان ۵/۲٪ را مادران مبتلا به دیابت بارداری و ۹٪ را مادران سالم تشکیل می دادند. بر این اساس، این مطالعه نشان داد بین میزان متغیر PAPP-A در مادران مبتلا به دیابت بارداری و سالم اختلاف مشخص آماری وجود ندارد. در مطالعه چنوک و همکارانش نیز روی ۵۴۰ مادر باردار تفاوت معناداری در میزان PAPP-A در دو گروه دیابت بارداری و گروه غیر دیابتی نیافتند و براساس نتیجه گیری آنها، PAPP-A پیشگویی کننده دیابت بارداری غیر وابسته به انسولین یا دیابت بارداری با شروع زودرس در جمعیت زنان چینی نبود (۲۲). ساویدو و همکاران نیز تفاوتی در میزان PAPP-A در گروه مادران مبتلا به دیابت بارداری و گروه کنترل نیافتند (۱۳). اما در مطالعه رضانی و همکاران روی ۲۸۴ باردار، تفاوت معناداری بین دیابت بارداری و PAPP-A گزارش کردند و طبق یافته های آنان PAPP-A می تواند به عنوان یک عامل خطر احتمالی در بروز دیابت بارداری باشد (۱۷). در مطالعه فراز و همکاران که در سالهای ۲۰۱۲ تا ۲۰۱۳ جهت بررسی ارتباط PAPP-A و دیابت بارداری در بین ۲۰۵۸ مادر باردار سنجیده شد ارتباط معناداری را بین PAPP-A و

۹۹۴ مادر باردار تک قلو نشان داد سطح PAPP-A ارتباط معنی داری با پره اکلامپسی، زایمان زودرس و وزن کم نوزاد بدو تولد داشت. با این حال، رابطه بین PAPP-A و سقط جنین معنی دار نبود (۲۱). تفاوت نتایج به دست آمده در مطالعات میتواند به علت تفاوت در حجم نمونه مورد بررسی و تفاوت در بروز هر کدام از عوارض بارداری در جمعیت مورد مطالعه باشد به طور مثال وزن کم نوزاد بدو تولد می تواند به صورت مستقیم و یا حاصل از بروز پره اکلامپسی در طی بارداری باشد. علاوه بر این نوع مطالعه (گذشته نگر، cohort، case control) می تواند در نتایج حاصل از مطالعه تاثیرگذار باشد.

ارتباط گنادوتروپین کوریونی سرم (β hCG-) و دیابت بارداری

براساس یافته های این مطالعه، ۶/۵٪ از مادران میزان β hCG- سرم پایین تر از نقطه برش ۰/۵ داشتند ($MOM \leq 5/0$) که از این میزان ۲٪ را مادران مبتلا به دیابت بارداری و ۹٪ را مادران سالم تشکیل می دادند. بین میزان متغیر گنادوتروپین کوریونی سرم در مادران مبتلا به دیابت بارداری و سالم اختلاف مشخص آماری وجود نداشت. در مطالعه مروری Donovan و همکاران روی ۱۳ مطالعه پیرامون ارتباط β hCG- با عوارض بارداری نشان داده شد β hCG- MoM، در زنانی که بعداً دچار GDM شدند در مقایسه با زنانی که در طول بارداری با قند خون طبیعی باقی مانده بودند، کمتر بود (۲۷). مطالعه گذشته نگر Visconti و همکاران روی ۲۴۱۰ زن باردار نیز نشان داد که β hCG- MoM ≥ 2 با کاهش خطر دیابت بارداری همراه است (۲۹). اما در مطالعه Caliskan و همکاران روی ۲۷۸ زن با حاملگی تک قلوبی که از نظر نتایج OGTT مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند، غلظت آزاد β hCG- در بین گروهها تفاوت معنی داری وجود نداشت (۲۶). در مطالعه Kevin Spencer روی ۲۷ هزار مادر باردار در سال های ۲۰۰۹ تا ۲۰۱۱ نشان داده شد غلظت های سه ماهه اول بارداری PAPP-A و β hCG- آزاد در حاملگی هایی که بعداً با GDM تشخیص داده می شوند کاهش می یابد (۳۲). اما در مطالعه Husslein و همکاران روی ۲۸۸ زن نشان داد PAPP-A و β hCG- به طور مستقل با یکدیگر مرتبط بودند اما هیچ ارتباطی بین

و قومیتی جمعیت مورد مطالعه در مطالعات مختلف و تفاوت در شیوع و بروز دیابت بارداری در هر جمعیت و نیز تفاوت در سبک زندگی و متغیرهای مادری نظیر مصرف سیگار و محدوده سنی مادران، تفاوت در تست های غربالگری و تشخیصی مورد استفاده و نیز تفاوت در معیارهای تشخیصی و طبقه بندی دیابت بارداری از عوامل تاثیرگذار در اختلاف نتایج مشاهده شده در مطالعات است. براساس یافته های مطالعه حاضر ۱۲٪ از مادران، میزان PAPP-A پایین تر از نقطه برش ۰/۵ داشتند ($MOM \leq 5/0$) که از این میزان ۲/۵٪ را مادران مبتلا به پره اکلامپسی و ۹/۶٪ را مادران سالم تشکیل می دادند. بر این اساس این مطالعه نشان داد بین میزان متغیر PAPP-A در مادران سالم و مبتلا به پره اکلامپسی اختلاف معنادار آماری وجود ندارد. در مطالعه ای روی ۱۸۰۴ مادر باردار جهت بررسی ارتباط PAPP-A و β hCG با بروز پره اکلامپسی بین مادران دچار پره اکلامپسی و مادران سالم تفاوت معناداری وجود داشت به طوریکه بروز پره اکلامپسی خفیف با کاهش PAPP-A افزایش می یافت (۳۴). در مطالعه غربالگری Honglei Duan و همکاران که روی ۱۲۰ مادر باردار جهت ارزیابی ارتباط فاکتورهای β hCG، PAPP-A و AFP با پیشرفت پره اکلامپسی انجام گرفت، مشخص شد بین سطوح سرمی PAPP-A در دو گروه پره اکلامپسی و گروه کنترل تفاوت معنی داری وجود نداشت (۳۶). اما در مطالعه حمیده پاک نیت و همکاران روی ۹۹۴ مادر باردار تک قلو نشان داد سطح پروتئین پلاسمای A مرتبط با بارداری ارتباط معنی داری با بروز پره اکلامپسی وجود داشت (۲۱). در مطالعه حاضر ۱٪ از مادران دارای زایمان زودرس و ۳٪ مادران دارای زایمان ترم میزان PAPP-A پایین تر از نقطه برش ۰/۵ داشتند ($MOM \leq 5/0$) که نشان می دهد بین میزان PAPP-A در مادران دارای زایمان ترم و زایمان زودرس اختلاف مشخص آماری وجود ندارد. همچنین هیچکدام از مادران دارای نوزاد با وزن کم بدو تولد میزان PAPP-A پایین تر از نقطه برش ۰/۵ ($MOM \leq 5/0$) نداشتند درحالی که ۲٪ مادران دارای نوزاد با وزن طبیعی بدو تولد، میزان PAPP-A پایین تر از نقطه برش ۰/۵ داشتند ($MOM \leq 5/0$). مطالعه حمیده پاک نیت و همکاران روی

اکلامپسی و ۸/۵٪ را مادران سالم تشکیل می دادند. بر این اساس این مطالعه نشان داد بین میزان متغیر β -hCG در مادران مبتلا به پره اکلامپسی و سالم اختلاف مشخص آماری وجود ندارد. در مطالعه حمیده پاک نیت و همکاران، سطح β -hCG هیچ ارتباط معنی داری با پیامدهای نامطلوب بارداری نشان نداد (۲۱). همچنین در مطالعه غربالگری Duan و همکاران نیز مشخص شد بین سطوح سرمی β -hCG در دو گروه پره اکلامپسی و گروه کنترل تفاوت معنی داری وجود نداشت (۳۳). همچنین مطالعه ای روی ۱۸۰۴ مادر باردار نیز گزارش کرد بین سطوح β hCG و بروز پره اکلامپسی ارتباط معناداری وجود نداشت (۳۴). اما Belovic و همکاران در سال ۲۰۱۹ روی ۱۰۴ خانم باردار نتیجه گرفتند PAPP-A و hCG می توانند در پیش بینی فشار خون بارداری و پره اکلامپسی مفید باشند (۳۵). تفاوت در نتیجه مطالعه اخیر را می توان به علت تفاوت در بررسی β -hCG آزاد سرم در مطالعه حاضر و hCG توتال در مطالعه Belovic و همکاران باشد، هم چنین قابل ذکر است حجم نمونه مطالعه ما تقریباً دو برابر این مطالعه بوده است. در مطالعه حاضر، هیچکدام از مادران دارای زایمان زودرس میزان β -hCG آزاد سرم پایین تر از نقطه برش ۰/۵ ($MOM \leq 5/0$) نداشتند درحالیکه ۶/۶٪ از مادران دارای زایمان ترم و ۶/۶٪ از مادران دارای دارای میزان β -hCG آزاد پایین تر از نقطه برش ۰/۵ بودند. بر این اساس ارتباط معناداری بین میزان متغیر β -hCG آزاد سرم در مادران دارای زایمان ترم و زایمان زودرس اختلاف مشخص آماری وجود ندارد. علاوه بر این، ۰/۵٪ از مادران دارای نوزاد با وزن کم بدو تولد میزان β hCG سرم پایین تر از نقطه برش ۰/۵ ($MOM \leq 5/0$) داشتند درحالیکه ۶/۱٪ از مادران دارای نوزاد با وزن کم هنگام تولد دارای میزان β hCG سرم پایین تر از نقطه برش ۰/۵ بودند. بر این اساس ارتباط معناداری بین میزان متغیر β hCG سرم در مادران با نوزاد با وزن طبیعی و وزن کم بدو تولد اختلاف مشخص آماری وجود ندارد. لازم به ذکر است تعداد بروز سقط در این مطالعه جهت بررسی ارتباط میزان β hCG سرم و سقط بسیار کم بوده و غیر قابل نتیجه گیری است.

GDM و نشانگرهای سرم سه ماهه اول بارداری وجود ندارد (۳۱). در مطالعات با حجم نمونه مشابه مطالعه حاضر، نتایج همخوان بوده و تفاوت با مطالعات دیگر می تواند حاصل تفاوت بارز در حجم نمونه مورد مطالعه باشد. بنابراین حجم نمونه می تواند از عوامل موثر در یافتن ارتباط بین میزان متغیر گنادوتروپین کوریونی سرم با دیابت بارداری باشد.

ارتباط β -hCG آزاد و عوارض بارداری

براساس یافته های این مطالعه، ۶/۵٪ از مادران میزان β -hCG سرم پایین تر از نقطه برش ۰/۵ داشتند ($MOM \leq 5/0$) که از این میزان ۲٪ را مادران مبتلا به دیابت بارداری و ۹٪ را مادران سالم تشکیل می دادند. بر این اساس این مطالعه نشان داد بین میزان متغیر گنادوتروپین کوریونی سرم در مادران مبتلا به دیابت بارداری و سالم اختلاف مشخص آماری وجود ندارد. در مرور مطالعات Donovan و همکاران روی ۱۳ مطالعه پیرامون ارتباط β -hCG با عوارض بارداری نشان داده شد β -hCG MoM در زنانی که بعداً دچار GDM شدند در مقایسه با زنانی که در طول بارداری با قند خون طبیعی باقیمانده بودند، کمتر بود (۲۷). مطالعه گذشته نگر Visconti و همکاران روی ۲۴۱۰ زن باردار نیز نشان داد β -hCG ≥ 2 MoM با کاهش خطر دیابت بارداری همراه است (۲۹). اما در مطالعه Caliskan و همکاران روی ۲۷۸ زن با حاملگی تک قلوبی که از نظر نتایج OGTT مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند، غلظت آزاد β -hCG در بین گروهها تفاوت معنی داری وجود نداشت (۳۰). در مطالعه Kevin Spencer روی ۲۷ هزار مادر باردار در سال های ۲۰۰۹ تا ۲۰۱۱ نشان داده شد غلظت های سه ماهه اول بارداری PAPP-A و β -hCG آزاد در حاملگی هایی که بعداً با GDM تشخیص داده می شوند کاهش می یابد (۳۰). اما در مطالعه Husslein و همکاران روی ۲۸۸ زن نشان داد PAPP-A و β -hCG به طور مستقل با یکدیگر مرتبط بودند اما هیچ ارتباطی بین GDM و نشانگرهای سرم سه ماهه اول بارداری وجود ندارد (۳۱). طبق یافته های مطالعه حاضر، ۶/۵٪ از مادران میزان β -hCG سرم پایین تر از نقطه برش ۰/۵ داشتند ($MOM \leq 5/0$) که از این میزان ۱٪ را مادران مبتلا به پره

تغییراتی در PAPP-A نشان نداده است. **پنجم:** در طول بارداری، PAPP-A توسط ترئوفوبلاست تولید می شود و ۲۸ روز پس از لقاح در خون مادر قابل تشخیص است. یک مدل تجربی نشان داد که PAPP-A یک پروتئین اتصال دهنده فاکتور رشد انسولین ۴ است که فعالیت فاکتور رشد انسولین (IGF) را تنظیم می کند (۳۶). در واقع ارتباط بین PAPP-A و کنترل قند خون به دلیل اینکه در آن محور IGF درگیر است، می تواند قابل قبول باشد. با این حال مطالعات انسانی، شواهد واضحی برای مکانیسم متابولیک یا بیوشیمیایی ارتباط احتمالی بین سطوح PAPP-A سه ماهه اول و GDM ارائه نداده اند. در این مطالعه سعی بر بررسی ارتباط احتمالی PAPP-A و β hCG با عوارض بارداری در گروه مادران مورد مطالعه، شده است.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده از این مطالعه، بین سطح سرمی PAPP-A و سطح سرمی β -hCG آزاد با عوارض بارداری نظیر وزن کم هنگام تولد، بروز پره‌اکلامپسی، بروز دیابت بارداری و زایمان زودرس ارتباط معنی داری وجود ندارد.

ملاحظات اخلاقی

این پژوهش در تاریخ ۱۳۹۹/۲/۹ در جلسه کمیته تخصصی اخلاق در پژوهش های زیست پزشکی دانشگاه شاهد بررسی شد و با کد اخلاقی IR.SHAHED.REC.1399.015 به تصویب رسید.

تشکر و قدردانی

تحقیق حاضر برگرفته از پایان نامه دکتری حرفه‌ای پزشکی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد است. بدین وسیله از مساعدت کارکنان محترم درمانگاه زنان و بخش دو بیمارستان شهید مصطفی خمینی و همچنین کلیه عزیزان شرکت کننده در این تحقیق تشکر و قدردانی بعمل می آید.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله اعلام می دارند که هیچ گونه تضادی در منافع وجود ندارد.

با وجود نتایج متفاوت در مطالعات از جمله مطالعه حاضر، توضیحات چندگانه وجود دارد: **اول:** در هر مطالعه معیارهای متفاوتی جهت تعیین نحوه انجام غربالگری مد نظر قرار گرفته است که منجر به اختلاف در نتایج شده است. در برخی مطالعات زنان براساس عوامل خطر دیابت بارداری مورد آزمایش قرار گرفته اند و برخی دیگر از مطالعات زنانی که سطح قند خون تصادفی غیر طبیعی داشتند مورد بررسی قرار گرفته اند و در سایر مطالعات آزمون غربالگری جامع مبنای انتخاب افراد بود. **دوم:** در مطالعات موجود روش ها و معیارهای تشخیصی به کار برده شده متفاوت بود؛ بطور مثال در دیابت بارداری GTT 75 گرم دو ساعت، OGTT 100 گرم سه ساعت، OGTT 100 گرم دو ساعت. پژوهش های انجام شده نشان داده اند که فراوانی GDM به طور معنی داری در جمعیت های مشابه براساس معیارهای تشخیصی مختلف، متفاوت است: WHO 1999 %۳/۲۴، IADPSG %۴/۲، ADA %۵/۹

سوم: مشخص شده که PAPP-A و β hCG تحت تأثیر سایر متغیرهای مادری یا بارداری مانند وزن مادر و مصرف سیگار قرار دارند. به همین دلیل برای محاسبه PAPP-A و β hCG، اصلاح این متغیرها مورد توجه قرار گرفته است. آزمایشگاه های مختلف ممکن است اصلاح PAPP-A و β hCG را با استفاده از متغیرهای مادری یا بارداری متفاوت انجام داده باشند، که این امر ممکن است در ارزیابی ارتباط بین این نشانگرهای بیوشیمیایی و عوارض بارداری، انحراف ایجاد کرده باشد. **چهارم:** ممکن است شدت عوارض بارداری در مطالعات متفاوت باشد، بطور مثال شدت دیابت بارداری با نسبت زنان مبتلا به GDM که نیازمند درمان انسولین هستند، مشخص می شود. زنان مبتلا به GDM که نیازمند درمان با انسولین هستند، ممکن است GDM شدیدتر یا دیابت تشخیص داده نشده قبل از بارداری داشته باشند. لواتی نشان داد که زنان مبتلا به GDM نیازمند درمان با انسولین در مقایسه با زنان مبتلا به GDM که تحت رژیم غذایی قرار گرفتند دارای PAPP-A بسیار پایین تری بودند (۲۴). فراوانی پایین مادران نیازمند به درمان انسولین در مطالعه حاضر (۴ نفر در ۳۷ نفر مبتلا به دیابت بارداری) ممکن است توضیح دهد که چرا جمعیت مورد مطالعه ما در طی سه ماهه اول،

منابع

1. Huang Sh, Chang Ch, Cheng P, Hsiao Ch, Soong Y, Duan T. First-trimester combined screening is effective for the detection of unbalanced chromosomal translocations at 11 to 12 weeks of gestation. *Reproductive Sciences* 2014; 21(5): 594–600.
2. Ong C Y, Liao A W, Spencer K, Munim S, Nicolaides K H. First trimester maternal serum free beta human chorionic gonadotrophin and pregnancy associated plasma protein a as predictors of pregnancy complications. *An International Journal of Obstetrics and Gynaecology* 2000; 107(10):1265–70.
3. Goetzl L, Krantz D, Simpson J L, Silver R K, Zachary J M, Pergament E, et al. Pregnancy-associated plasma protein a, free beta-hcg, nuchal translucency, and risk of pregnancy loss. *Obstetrics & Gynecology* 2004;104(1):30-6.
4. Savvidou MD, Syngelaki A, Muhaisen M, Emelyanenko E, Nicolaides KH. First trimester maternal serum free β -human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein A in pregnancies complicated by diabetes mellitus. *An International Journal of Obstetrics and Gynaecology* 2012;119(4):410–6.
5. Sharp AN, Alfirevic Z. First trimester screening can predict adverse pregnancy outcomes. *Prenatal Diagnosis* 2014;34(7):660–7.
6. Canini S, Prefumo F, Pastorino D, Crocetti L, Afflitto CG, Venturini PL, et al. Association between birth weight and first-trimester free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein A. *Fertility and Sterility* 2008;89(1):174–8.
7. Ranta JK, Raatikainen K, Romppanen J, Pulkki K, Heinonen S. Decreased PAPP-A is associated with preeclampsia, premature delivery and small for gestational age infants but not with placental abruption. *The European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2011;157(1):48–52.
8. Smith GCS, Shah I, Crossley JA, Aitken DA, Pell JP, Nelson SM, et al. Pregnancy-associated plasma protein A and alpha-fetoprotein and prediction of adverse perinatal outcome. *Obstetrics & Gynecology* 2006;107(1):161–6.
9. Savvidou MD, Syngelaki A, Muhaisen M, Emelyanenko E, Nicolaides KH. First trimester maternal serum free β -human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein A in pregnancies complicated by diabetes mellitus. *An International Journal of Obstetrics and Gynaecology* 2012;119(4):410–6.
10. Yaron Y, Heifetz S, Ochshorn Y, Lehavi O, Orr-Urtreger A. Decreased first trimester PAPP-A is a predictor of adverse pregnancy outcome. *Prenatal Diagnosis* 2002;22(9):778–82.
11. Kalousová M, Muravská A, Zima T. Pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) and preeclampsia. *Advances in*

- Clinical Chemistry 2014;63:169–209.
12. Ghasemi-Tehrani H, Sadeghian A, Entezari R. Relationship between pregnancy complications and serum pregnancy associated-plasma-protein-a and free- β -human chorionic gonadotropin in the first trimester among iranian women. *Journal of Family and Reproductive Health* 2017;11(4):219–24.
 13. Ramezani S, Doulabi MA, Saqhafi H, Alipoor M. Prediction of gestational diabetes by measuring the levels of pregnancy associated plasma protein-a (papp-a) during gestation weeks 11-14. *The Journal of Reproduction & Infertility* 2020;21(2):130–7.
 14. Cuckle H, Arbuzova S, Spencer K, Crossley J, Barkai G, Krantz D, et al. Frequency and clinical consequences of extremely high maternal serum PAPP-A levels. *Prenatal Diagnosis* 2003;23(5):385–8.
 15. Cohen JL, Smilen KE, Bianco AT, Moshier EL, Ferrara LA, Stone JL. Predictive value of combined serum biomarkers for adverse pregnancy outcomes. *The European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2014;181:89–94.
 16. Basirat Z, Barat S, Hajiahmadi M. Serum beta human chorionic gonadotropin levels and preeclampsia. *Saudi Medical Journal* 2006;27(7):1001–4.
 17. Pakniat H, Bahman A, Ansari I. The relationship of pregnancy-associated plasma protein a and human chorionic gonadotropin with adverse pregnancy outcomes: a prospective study. *The Journal of Obstetrics and Gynecology of India* 2019;69(5):412–9.
 18. Cheuk QK, Lo TK, Wong SF, Lee CP. Association between pregnancy-associated plasma protein-A levels in the first trimester and gestational diabetes mellitus in Chinese women. *Hong Kong Medical Journal* 2016;22(1):30–8.
 19. Ferraz T, Pinto P, Martins S, Guimarães JT, Montenegro N, Ramalho C. 754: Serum PAPP-A as a predictor of gestational diabetes. *American Journal of Obstetrics & Gynecology* 2015;212(1):S366–7.
 20. Lovati E, Beneventi F, Simonetta M, Laneri M, Quarleri L, Scudeller L, et al. Gestational diabetes mellitus: including serum pregnancy-associated plasma protein-A testing in the clinical management of primiparous women? A case-control study. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2013;100(3):340–7.
 21. Farina A, Eklund E, Bernabini D, Paladino M, Righetti F, Monti G, et al. A First trimester biomarker panel for predicting the development of gestational diabetes. *Reproductive Sciences* 2017;24(6):954–9.
 22. Gurram P, Benn P, Grady J, Prabulos A-M, Campbell W. First trimester aneuploidy screening markers in women with pre-gestational diabetes mellitus. *Journal of Clinical Medicine* 2014;3(2):480–90.
 23. Donovan BM, Nidey NL, Jasper EA, Robinson JG, Bao W, Saftlas AF, et al. First trimester prenatal screening biomarkers and gestational diabetes mellitus: A systematic review and meta-

- analysis. PLoS One 2018;13(7):e0201319.
24. Xiao D, Chenhong W, Yanbin X, Lu Z. Gestational diabetes mellitus and first trimester pregnancy-associated plasma protein A: A case-control study in a Chinese population. *Journal of Diabetes Investigation* 2018;9(1):204–10.
 25. Visconti F, Quaresima P, Chiefari E, Caroleo P, Arcidiacono B, Puccio L, et al. First trimester combined test (ftct) as a predictor of gestational diabetes mellitus. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2019;16(19).
 26. Caliskan R, Atis A, Aydin Y, Acar D, Kiyak H, Topbas F. PAPP-A concentrations change in patients with gestational diabetes. *Journal of Obstetrics and Gynaecology* 2020;40(2):190–4.
 27. Husslein H, Lausegger F, Leipold H, Worda C. Association between pregnancy-associated plasma protein-A and gestational diabetes requiring insulin treatment at 11-14 weeks of gestation. *The European Association of Perinatal Medicine* 2012;25(11):2230–3.
 28. Spencer K, Cowans NJ. The association between gestational diabetes mellitus and first trimester aneuploidy screening markers. *Annals of Clinical Biochemistry* 2013;50(Pt 6):603–10.
 29. Newman RB, Goldenberg RL, Moawad AH, Iams JD, Meis PJ, Das A, et al. Occupational fatigue and preterm premature rupture of membranes. National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine, Units Network. *The American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2001;184(3):438–46.
 30. Gu W, Lin J, Hou Y. [The value of maternal first and second trimester serum data of β -hCG, PAPP-A, AFP and uE3 in the prediction of preeclampsia]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi* 2015;50(2):101–7.
 31. Belovic DK, Plešinac S, Dotlić J, Radojević AS, Akšam S, Cvjetičanin MM, et al. Biochemical markers for prediction of hypertensive disorders of pregnancy. *Journal of Medical Biochemistry* 2019;38(1):71–82.
 32. Duan H, Zhao G, Xu B, Hu S, Li J. Maternal serum PLGF, PAPP-A, β -hCG and AFP levels in early second trimester as predictors of preeclampsia. *Clinical Laboratory* 2017;63(5):921–5.