

## *Diagnostic Value of Serum Levels of Vascular Endothelial Growth Factor as a Marker of Tubal Pregnancy*

Flora Saghafi<sup>1</sup>,  
Tahereh GeliniMoghadam<sup>2</sup>,  
Siavash Moradi<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Obstetricians & Gynecologist, Sari, Iran

<sup>2</sup> Assistant Professor, Department of Gynecology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>3</sup> Assistant Professor, Medical Education Development Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received July 21, 2019 ; Accepted December 30, 2019)

### **Abstract**

**Background and purpose:** Tubal pregnancy is a life threatening condition that not only causes mortality but also reduces fertility by less than 50%. In many patients, the level of  $\beta$ hCG does not reach detection threshold, and for definite diagnosis, long-term follow-up considering  $\beta$ hCG titration and transvaginal ultrasonography are needed which could lead to delay in diagnosis and treatment. The aim of this study was to determine the vascular endothelial growth factor (VEGF) levels as a serum biomarker in the diagnosis of tubal pregnancy.

**Materials and methods:** This descriptive study was performed in 103 pregnant women attending Sari Imam Khomeini Hospital, 2018, of whom tubal pregnancy was diagnosed in 50 at 5 to 7.5 weeks of gestational age and the rest (n=53) had normal intrauterine pregnancy with the same gestational age. An ELISA kit (Bioassay Laboratory-China) was used to measure the levels of serum VEGF.

**Results:** The patients aged 21 to 47 years old (mean age:  $31.2 \pm 6.1$  years). The median serum levels of VEGF in the tubal pregnancy group and individuals with normal intrauterine pregnancy were 233.5 and 157.9, respectively, indicating significant differences between the two groups ( $P < 0.0001$ ). When threshold concentrations of a serum VEGF level  $> 280$  pg/ml were used, tubal pregnancy could be distinguished from normal pregnancy with a sensitivity of 86%, specificity of 67.9%, positive predictive value of 99.6%, and positive and negative likelihood ratio of 2.68 and 0.21, respectively.

**Conclusion:** According to current findings, serum VEGF levels could be of great help in differentiating tubal pregnancy from normal pregnancy with appropriate sensitivity and specificity.

**Keywords:** tubal pregnancy, VEGF, sensitivity, specificity

J Mazandaran Univ Med Sci 2020; 29 (182): 21-30 (Persian).

\* Corresponding Author: Flora Saghafi - Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran  
(E-mail: flora.saghafi@gmail.com)

## ارزش تشخیصی فاکتور رشد اندوتلیوم عروقی سرم به عنوان نشانه ی حاملگی لوله ای

فلورا ثقفی<sup>1</sup>طاهره گلینی مقدم<sup>1</sup>سیاوش مرادی<sup>2</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** بارداری لوله‌ای، بیماری مرگباری است که نه تنها زندگی زن را تهدید می‌کند، بلکه موفقیت باروری او را نیز به کم‌تر از 50 درصد کاهش می‌دهد. بسیاری از موارد بیماران قبل رسیدن  $\beta$ hCG به حد قابل افتراق مراجعه می‌کنند و جهت تشخیص قطعی بیماری و شروع درمان، نیاز به پیگیری طولانی مدت با سطح بتا تیتراژ و سونوگرافی ترنس واژینال دارند که این مسئله باعث به تعویق افتادن تشخیص و درمان بیماری می‌شود. این مطالعه با هدف تعیین سطح فاکتور رشد اندوتلیوم عروقی به عنوان نشانه‌ی سرمی جهت تشخیص حاملگی لوله‌ای انجام پذیرفت.

**مواد و روش‌ها:** جمعیت مورد مطالعه در این مطالعه توصیفی، شامل 103 زن باردار مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی ساری در سال 1397 بود که 50 نفر از آن‌ها تشخیص بارداری لوله‌ای در حدود هفته پنجم تا هفتم و نیم بارداری داشته‌اند و 53 نفر دیگر یک هم‌گروه دارای بارداری طبیعی با سن حاملگی همسان بودند. برای سنجش سطح VEGF از کیت (Bioassay Technology Laboratory تولید کشور چین) به روش ELISA استفاده شد.

**یافته‌ها:** در بررسی 103 مورد مادر باردار، دامنه سنی بیماران بین 21-47 سال با میانگین و انحراف معیار  $31/2 \pm 6/1$  سال بود. سطح سرمی VEGF در گروه بارداری لوله‌ای میانه  $233/5$  و در گروه بارداری طبیعی داخل رحمی  $157/9$  داشت که از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری داشتند ( $P < 0/0001$ ). در نقطه برش اپتیموم  $200 \text{ pg/ml}$  میزان VEGF سرم جهت تعیین بارداری لوله‌ای، حساسیت 86 درصد، ویژگی  $67/9$  درصد، ارزش اخباری مثبت  $99/6$  درصد و نسبت درست‌نمایی مثبت و منفی به ترتیب  $2/68$  و  $0/21$  داشته است.

**استنتاج:** نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که سطح سرمی VEGF در افتراق حاملگی لوله‌ای از حاملگی طبیعی با حساسیت و ویژگی مناسبی کمک کننده می‌باشد.

**واژه های کلیدی:** بارداری لوله‌ای، VEGF، حساسیت، ویژگی

### مقدمه

خارج از فضای رحمی اطلاق می‌گردد (1). لوله فالوپ شایع‌ترین محل لانه‌گزینی (98 درصد) می‌باشد، اما

حاملگی خارج از رحمی (Ectopic pregnancy) به لانه‌گزینی تخم لقاح یافته و تکامل ساک حاملگی

Email: flora.saghafi@gmail.com

مؤلف مسئول: فلورا ثقفی - ساری: مرکز آموزشی درمانی امام (ره) ساری

1. متخصص زنان و زایمان، ساری، ایران

2. استادیار، گروه جراحی زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

3. استادیار، مرکز مطالعات و توسعه آموزش علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: 1398/4/30 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1398/5/9 تاریخ تصویب: 1398/10/9

غنی از عروق کاملا متفاوت بوده که به نظر می‌رسد تولید و ترشح VEGF در بارداری خارج از رحمی افزایش می‌یابد (18-22). با توجه به این موارد به نظر می‌رسد که شرایط رویان در فضای خارج از رحمی می‌تواند به عنوان عاملی برای تحریک تولید و ترشح VEGF و افزایش سطح آن در سرم در زمان‌های اولیه بارداری گردد. درمان حاملگی خارج رحمی شامل درمان طبی و جراحی می‌باشد. درمان طبی شامل درمان با داروی متوترکسات است که با روش‌های درمانی مختلفی قابل انجام است و درمان جراحی شامل لاپاراتومی و لاپاراسکوپ می‌باشد که به روش‌های مختلف شامل سالپنژکتومی، سالپنگوستومی و سالپنگوتومی با توجه به شرایط بیمار انجام می‌شود. برای تشخیص قطعی حاملگی لوله‌ای بدون انجام جراحی نیاز به این موضوع می‌باشد که سطح  $\beta$ hCG به حد بالای 1500 تا 2000 برسد و در عین حال سونوگرافی ترنس واژینال مبنی بر عدم وجود ساک بارداری داخل رحمی به همراه توده آدنکسال خارج تخمدانی وجود داشته باشد. با توجه به این که در بسیاری از موارد بیماران قبل رسیدن  $\beta$ hCG به حد قابل افتراق مراجعه می‌کنند و جهت تشخیص قطعی بیماری و شروع درمان نیاز به پیگیری طولانی مدت با سطح بتا تیتراژ و سونوگرافی ترنس واژینال می‌باشد، این مسئله باعث به تعویق افتادن تشخیص و درمان بیماری می‌شود که به دنبال آن سن بارداری افزایش یافته و ریسک عوارض شامل پرفوریشن افزایش می‌یابد. هنوز روش سریع‌تری برای تشخیص غیرجراحی حاملگی خارج رحمی در این موارد ثابت نشده است و این مسئله مستلزم پیدا کردن روش دیگری برای تشخیص هر چه سریع‌تر بیماری است (23). به دلیل اهمیت موضوع و با توجه به این که در مطالعات مختلف، مقادیر ارائه شده در سطح سرمی فاکتور رشد اندوتلیومی جهت افتراق حاملگی داخل رحمی از حاملگی خارج رحمی، متفاوت بوده است و همچنین در مطالعات مختلف ارزش اخباری مثبت، حساسیت و ویژگی متفاوتی در مورد ارزش تشخیصی

حاملگی خارج از رحمی می‌تواند در قسمت‌های دیگر مانند تخمدان‌ها، شکم یا رباط پهن نیز اتفاق بیفتد (2). طی دهه‌های اخیر میزان بروز حاملگی خارج از رحمی افزایش یافته است، به طوری که حدود 2 درصد از تمامی حاملگی‌ها را تشکیل می‌دهد (3). این افزایش می‌تواند به دلیل رشد تعداد عوامل خطر مانند شیوع بالای بیماری‌های منتقله از راه جنسی، بیماری التهابی لگن، سن بالا در اولین حاملگی، استفاده از لوونرژسترل به عنوان قرص پیشگیری اورژانسی، استفاده از تکنولوژی‌های کمک باروری، زایمان سزارین و استفاده از پیشگیری با بسته لوله و باز کردن دوباره جهت بارداری می‌باشد (4-6). اگرچه میزان مرگ و میر حاملگی خارج از رحمی کاهش محسوسی پیدا کرده است اما خونریزی ناشی از پارگی لوله‌های رحمی، اصلی‌ترین دلیل مرگ و میر مادران در سه ماهه اول بارداری و علت 9-13 درصد تمام مرگ‌های مربوط به بارداری می‌باشد (7,8). تشخیص زود هنگام علت خونریزی سه ماهه اول بارداری چالش مهمی می‌باشد و استفاده از سونوگرافی ترانس واژینال و اندازه‌گیری سریال  $\beta$ -hCG شایع‌ترین روش‌های تشخیصی مورد استفاده است (9-12). با وجود استفاده از سونوگرافی ترانس واژینال با کیفیت بالا و تست‌های حساس برای  $\beta$ -hCG، هنوز در 40-50 درصد موارد تشخیص اولیه، اشتباه می‌باشد و بیومارکر سرمی که بتواند بین حاملگی رحمی و خارج رحمی افتراق ایجاد کند در دسترس نمی‌باشد (13,14). لانه‌گزینی و تکامل جفت مراحل اولیه و حیاتی در ادامه یک بارداری زنده است که همراه با رگ‌زایی عمقی می‌باشند (15). عامل رشد اندوتلیوم عروقی ( $VEGF^1$ ) یک عامل رگ‌زا می‌باشد که در فرآیند تکامل عروق در رویان و لانه‌گزینی و تکامل جفت نقشی مهم در تنظیم رشد عروق، ریمدلینگ و نفوذ آن در دسیدوا، اندومتر و تروفوبلاست دارد (16,17). تولید سلولی VEGF با وجود هایپوکسی تشدید می‌گردد و شرایط لانه‌گزینی در لوله‌ها با شرایط اندومتر

1. Vascular endothelial growth factor

VEGF گرفته شد. سپس ضمن انجام لاپاراسکوپی تشخیصی و درمانی که استاندارد طلایی در این مطالعه بود، سطوح سرمی مختلف مورد ارزیابی دیاگنوستیک قرار گرفت و در آخر منحنی ROC ترسیم شد. علاوه بر این به ارزیابی سطح سرمی VEGF در تعدادی تقریباً برابر از حاملگی‌های طبیعی با سن حاملگی یکسان نیز پرداخته شد. کلیه نمونه‌های سرمی همراه با آزمایشات ابتدای بارداری گرفته شده، با اخذ رضایت، اطلاع و آگاهی کامل مراجعین انجام شده است. معیارهای ورود به مطالعه شامل سطح  $\beta$ HCG بالای 1500 بدون رویت ساک داخل رحمی همراه با توده ادنکسال خارج تخمدانی، تشخیص قطعی Ep لوله‌ای با عمل جراحی و در مورد بارداری طبیعی سن بارداری 5 تا 7/5 هفته با تشخیص حاملگی داخل رحمی طبیعی بوده است. معیارهای خروج از مطالعه شامل: 1- حاملگی مولار 2- حاملگی خارج رحمی غیر لوله‌ای 3- بیماری که تشخیص قطعی حاملگی خارج رحمی در آن‌ها مطرح نشده است 4- بیماری مزمن مادر (25). برای سنجش سطح VEGF از کیت (Bioassay Technology Laboratory تولید کشور چین) به روش ELISA استفاده شد. تمامی نمونه‌ها به صورت همزمان و دو بار مورد بررسی قرار گرفت. برای انجام آزمایش ایزای VEGF طبق راهنمای کارخانه سازنده کیت، از تمامی بیماران نمونه خون 10 سی‌سی جهت انجام آزمایشات  $\beta$ hCG و VEGF دریافت گردید. نمونه‌های خون در لوله‌های سلیکونی دارای EDTA جمع‌آوری، و برای مدت 20-10 دقیقه مخلوط گردید و تحت سانتریفوژ (در دور 2000-3000 RPM) برای حدود 20 دقیقه قرار گرفت. قسمت شفاف به دقت جداسازی گردید، در صورت رویت سدیمان سانتریفوژ تکرار شد و برای سنجش سطح VEGF در دمای منفی 80 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. کلیه آزمایشات طبق مقررات و اخلاق پژوهشی و به مجوز کد کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مازندران

این فاکتور بیان شده است و با توجه به این که طبق منابع و کتب معتبر همچنان ارزش تشخیصی این فاکتور در دست مطالعه و بررسی می‌باشد و نیز به دلیل نبود چنین مطالعه‌ای برای جمعیت زنان ایرانی، این مطالعه با هدف بررسی سطح VEGF به عنوان بیومارکر سرمی جهت تشخیص حاملگی لوله‌ای انجام پذیرفت (7).

جمعیت مورد مطالعه در این مطالعه توصیفی (Prospective with blind comparison to a gold standard)، شامل 103 زن باردار مراجعه‌کننده به بیمارستان امام خمینی ساری در سال 1397 بود که 50 نفر از آن‌ها تشخیص بارداری لوله‌ای در حدود هفته پنجم تا هفتم و نیم بارداری داشتند و 53 نفر دیگر یک هم‌گروه دارای بارداری طبیعی با سن حاملگی همسان بودند.

به استناد مطالعه Fernandez da Silva و همکاران در سال 2013، که در آن انحراف معیار سطح سرمی VEGF در حاملگی خارج رحمی، 260 و حداقل اختلاف مهم از منظر بالینی بین سطح سرمی این فاکتور در حاملگی‌های طبیعی و خارج رحمی، 170 گزارش شده است و براساس پیش فرض‌های ذیل و نیز فرمول آماری زیر حداقل حجم نمونه 100 مورد برآورد گردید که به طور مساوی در دو گروه حاملگی لوله‌ای و بارداری طبیعی (هر گروه 50 نفر) تقسیم شدند (25).

The standard deviation (SD) of the measure being compared = 260

The minimum difference (d) that is clinically important = 170

The significance level (A) = 5%

The power of the test (1-B) = 90%

K = 10.5

N =  $2K SD^2 / d^2 = 50$  in each group

با در نظر گرفتن 10 درصد ریزش احتمالی نمونه‌ها

55 نفر برای هر گروه در نظر گرفته شد که نهایتاً در گروه بارداری داخل رحمی 53 نفر و در گروه بارداری لوله‌ای 50 نفر مورد بررسی قرار گرفتند.

در این مطالعه از بیماران مشکوک به حاملگی لوله‌ای که با سونوگرافی ترنس واژینال مورد ارزیابی قرار گرفته بودند بلافاصله نمونه سرمی جهت اندازه‌گیری

IR.MAZUMS.IMAMHOSPITAL.REC.1397.1665

بود که هیچ کدام در بین دو گروه از لحاظ آماری اختلاف معنی داری نداشتند ( $P>0/05$ ). سن حاملگی نیز بین 35-52 روز با میانگین  $41/6 \pm 7/2$  بود. همچنین سن حاملگی در گروه بارداری داخل رحمی  $40/5 \pm 6/85$  و در گروه بارداری لوله‌ای  $41/9 \pm 7/70$  روز بود که این مورد نیز از لحاظ آماری اختلاف معنی داری نداشت ( $P=0/719$ ). فقط 4 مورد (3/9 درصد) از افراد شاغل و 99 مورد (96/1 درصد) خانه‌دار بودند که قسمت عمده شغل افراد در هر دو گروه خانه‌دار بوده است و تفاوت آماری معنی داری در بین دو گروه وجود ندارد ( $P=0/953$ ). همچنین محل زندگی 60 مورد (58/3 درصد) شهر و محل زندگی 43 مورد (41/7 درصد) روستا بود که 38 مورد (71/7 درصد) از افراد گروه بارداری داخل رحمی شهر و 15 مورد (28/3 درصد) نیز روستا می‌باشد ولی در گروه بارداری لوله‌ای 22 مورد (44/0 درصد) در شهر زندگی کرده و 28 مورد (56/0 درصد) در روستا زندگی می‌کردند که این اختلاف از لحاظ آماری معنی دار بود ( $P=0/004$ ) (جدول شماره 1). در 36 مورد (35/0 درصد) سابقه زایمان نداشته‌اند و سایر افراد حداقل یک زایمان را گزارش کرده‌اند. همچنین سابقه بارداری نابجای قبلی در 7 مورد (6/8 درصد) از افراد وجود داشت. در 28 مورد (27/2 درصد) از این افراد نیز از روش‌های پیشگیری از بارداری استفاده می‌کردند. همچنین 12 مورد (11/7 درصد) سابقه‌ی نازایی داشتند. استفاده از ART برای بارداری در 5 مورد (4/9 درصد) گزارش شده است. همچنین بررسی وجود ضربان قلب جنین در 21 مورد (20/4 درصد) مثبت بود که تعداد زایمان، سابقه بارداری نابجای قبلی و استفاده از روش‌های پیشگیری از بارداری بین دو گروه اختلاف آماری معنی داری نداشت. اما از طرف دیگر میزان بارداری با روش ART در گروه با بارداری داخلی 0 مورد (0/0 درصد) و در گروه با بارداری لوله‌ای 5 مورد (10/0 درصد) بود که از لحاظ آماری نیز اختلاف معنی داری داشت ( $P=0/018$ ). بررسی ضربان قلب جنین

انجام شد. در قدم نخست نحوه توزیع داده‌ها ضمن ترسیم بافت نگار و یا انجام آزمون کولموگروف - اسمیرنوف و یا شاپیرو-ویلک مورد بررسی قرار گرفت. سپس توصیف داده‌های کمی با میانگین (انحراف معیار) و یا میانه (طیف میان چارکی) و داده‌های کیفی با فراوانی (درصد) صورت گرفت. در ادامه تفاوت بین متوسط متغیرهای کمی با آزمون t مستقل و تفاوت بین فراوانی متغیرهای کیفی با آزمون کای اسکوئر مورد بررسی قرار گرفت. جهت تعیین ویژگی‌های تشخیصی آزمون‌های شاخص براساس استاندارد مرجع - مشتمل بر حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری و نیز نسبت درست نمایی - از نرم افزار MedCalc نسخه 18 استفاده شد و ارزیابی صحت کلی آزمون‌های تشخیصی ترسیم منحنی ROC و مقایسه AUC انجام شد. لازم به ذکر است سایر مراحل توصیف و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار IBM SPSS 25 انجام گرفت و در همه موارد مقدار P دو طرفه کم‌تر از 0/05 معیار قضاوت آماری بود.

## یافته‌ها

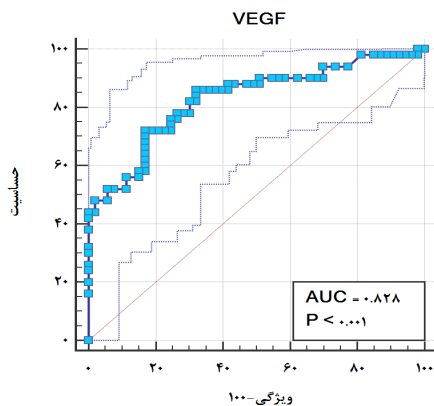
دامنه سنی 103 مادر باردار مورد مطالعه بین 21-47 سال با میانگین و انحراف معیار  $31/2 \pm 6/1$  بوده است. سن مادران در گروه با بارداری طبیعی  $30/74 \pm 5/92$  سال و در گروه با بارداری لوله‌ای  $33/06 \pm 6/19$  سال بود که اختلاف آماری معنی داری نداشتند ( $P=0/054$ ). میانگین وزنی مادران نیز  $68/9 \pm 12/0$  کیلو گرم و دامنه 40-91 کیلو گرم و میانگین قدی مادران  $162/0 \pm 5/8$  سانتی متر با دامنه 142-182 سانتی متر قرار داشت. علاوه بر این نمایه توده بدنی افراد در بازه 18-35 با میانگین  $26/2 \pm 4/5$  بود. در گروه زنان با بارداری داخل رحمی طبیعی وزن، قد و نمایه توده بدنی به ترتیب میانگین  $68/65 \pm 13/09$ ،  $160/79 \pm 5/12$  و  $26/50 \pm 4/70$  بوده است که این مقادیر برای گروه زنان با بارداری لوله‌ای به ترتیب  $71/40 \pm 10/65$ ،  $163/50 \pm 6/09$  و  $26/80 \pm 4/37$

میزان برای بارداری داخل رحمی در بازه 106-1291 با میانگین و انحراف معیار  $175/7 \pm 199/6$  و برای گروه بارداری لوله‌ای 160-3297 با میانگین و انحراف معیار  $231/0 \pm 364/1$  بود که طبق آزمون t-مستقل اختلاف آماری معنی‌دار داشت ( $P < 0/0001$ ). جدول شماره 3، سطح VEGF سرم در بین دو گروه با بارداری داخل رحمی و لوله‌ای و کل افراد را نشان می‌دهد.

جدول شماره 3: بررسی سطح VEGF سرم در بین دو گروه با بارداری داخل رحمی و لوله‌ای و کل افراد

گروه	کم‌ترین	بیش‌ترین	میانگین $\pm$ انحراف معیار	سطح معنی‌داری
بارداری داخل رحمی	106	1291	$175/7 \pm 199/6$	
بارداری لوله‌ای	160	3297	$231/0 \pm 364/1$	<0/0001
کل افراد	106	3297	$287/9 \pm 990/3$	

جهت محاسبه حساسیت و ویژگی میزان VEGF سرم در افتراق بین حاملگی طبیعی داخل رحمی و حاملگی لوله‌ای بر مبنای نتایج بالینی نوع زایمان، نمودار ROC ترسیم گردید (نمودار شماره 1). سطح زیر منحنی (AUC) برابر با  $0/828$  ( $CI=0/741-0/895$ ) بود که نشان دهنده دقت خوب آزمون است. همچنین در نقطه برش  $200 \text{ pg/ml}$  میزان VEGF جهت تعیین بارداری لوله‌ای، حساسیت 86 درصد، و ویژگی 67/9 درصد، ارزش اخباری منفی 5/2 درصد، ارزش اخباری مثبت 99/6 درصد و نسبت درست‌نمایی مثبت و منفی به ترتیب 2/68 و 0/21 به دست آمد.



نمودار شماره 1: نمودار ROC برای میزان VEGF در طی حاملگی لوله‌ای

نیز در 18 مورد (34/0 درصد) افراد گروه بارداری داخل رحمی مثبت و تنها در 3 مورد (6/0 درصد) از افراد با بارداری لوله‌ای مثبت بود که اختلاف آماری معنی‌داری داشت ( $P < 0/0001$ ) (جدول شماره 2).

جدول شماره 1: متغیرهای جمعیت شناختی بین دو گروه

متغیر	بارداری داخل رحمی (53 مورد)	بارداری لوله‌ای (50 مورد)	سطح معنی‌داری
شغل افراد			
خانه‌دار	51 (96/2)	48 (96/0)	0/953
شاغل	2 (3/8)	2 (4/0)	
محل زندگی			
شهر	38 (71/7)	22 (44/0)	0/004
روستا	15 (28/3)	28 (56/0)	

جدول شماره 2: متغیرهای مربوط به بارداری و زایمان در بین دو گروه بارداری طبیعی و لوله‌ای

متغیر	بارداری داخل رحمی (53 مورد)	بارداری لوله‌ای (50 مورد)	سطح معنی‌داری
تعداد زایمان			
بدون زایمان	20 (37/7)	16 (32/0)	0/359
یک	22 (41/5)	17 (34/0)	
دو	11 (20/8)	14 (28/0)	
سه	0 (0/0)	1 (2/0)	
چهار	0 (0/0)	2 (4/0)	
سابقه بارداری نابجای قبلی			
بله	2 (3/8)	5 (10/0)	0/210
خیر	51 (96/2)	45 (90/0)	
استفاده از روش‌های پیشگیری از بارداری			
بله	16 (30/2)	12 (24/0)	0/480
خیر	37 (69/8)	38 (76/0)	
سابقه نازایی			
دارد	1 (1/9)	11 (22/0)	0/001
ندارد	52 (98/1)	39 (78/0)	
بارداری با ART			
دارد	0 (0/0)	5 (10/0)	0/018
ندارد	53 (100/0)	45 (90/0)	
FHR			
دارد	18 (34/0)	3 (6/0)	<0/0001
ندارد	35 (66/0)	47 (94/0)	

ART: Assisted reproductive technology  
FHR: fetal heart rate

میزان  $\beta\text{HCG}$  اندازه‌گیری شده از مادران میانگین  $1716/5 \pm 3373/3$  بود و بررسی سطح  $\beta\text{HCG}$  در بین دو گروه نشان داد که زنان با بارداری داخل رحمی با میانگین  $4541/0 \pm 1960/0$  سطح بالاتری از زنان با بارداری لوله‌ای با میانگین  $1076/9 \pm 1433/4$  داشتند که این تفاوت از لحاظ آماری نیز معنی‌دار بود ( $P=0/012$ ). بررسی سطح VEGF سرم (پیکوگرم بر میلی‌لیتر) در بین دو گروه با بارداری داخل رحمی و لوله‌ای و کل افراد نشان می‌دهد که در کل افراد دامنه 106-3297 با میانگین و انحراف معیار  $287/9 \pm 990/3$  و میانه 214/7 داشت. این

## بحث

شواهد به دست آمده در این مطالعه نشان داد که سطح VEGF سرمی در زنان با حاملگی لوله‌ای از زنان با حاملگی طبیعی با سن بارداری همسان بالاتر می‌باشد ( $P < 0/0001$ ). میانگین سطح سرمی VEGF در زنان با حاملگی لوله‌ای ( $n=50$ ,  $233/5$  pg/ml) بود که مشابه با مقادیر اندازه‌گیری شده در مطالعات انجام شده توسط Daniel و همکاران ( $n=35$ ,  $226/8$  pg/ml) (26)، Kucera-Sliutz و همکاران ( $n=42$ ,  $211/2$  pg/ml) (11)، Mueller و همکاران ( $n=43$ ,  $203/6$  pg/ml) و Daponte و همکاران ( $n=27$ ,  $227/2$  pg/ml) و Fernandes da Silva و همکاران ( $n=35$ ,  $211/1$  pg/ml) و متفاوت از مطالعه Ugurlu و همکاران ( $n=55/2$  pg/ml) (27) می‌باشد که تفاوت مطالعه آخر با سایر مطالعات می‌تواند به دلیل حجم نمونه پایین‌تر، کیت آزمایشگاهی و جمعیت متفاوت باشد (11-9-27-24).

در مطالعه حاضر نتایج به دست آمده نشان‌دهنده قابلیت سطح سرمی VEGF در تمایز بین حاملگی لوله‌ای و حاملگی طبیعی می‌باشد و می‌تواند به تشخیص زود هنگام حاملگی لوله‌ای در افراد با سطح سرمی VEGF بالا کمک کند. سطح زیر منحنی ROC (AUC) برای سطح سرمی VEGF برابر با  $0/828$  ( $CI=0/741-0/895$ ) بود که نشان‌دهنده دقت خوب آزمون است. همچنین در نقطه برش اپتیموم  $200$  pg/ml میزان VEGF در طی بارداری لوله‌ای، حساسیت  $86$  درصد، ویژگی  $67/9$  درصد، ارزش اخباری مثبت  $99/6$  درصد و نسبت درست‌نمایی مثبت و منفی به ترتیب  $2/68$  و  $0/21$  به دست آمد. مطالعات دیگری که با موضوع مشابه انجام گرفته است در موافقت با نتایج این مطالعه و تایید استفاده قابلیت استفاده از سطح سرمی VEGF در تشخیص حاملگی لوله‌ای از طبیعی بودند. ولی از لحاظ میزان حساسیت و ویژگی و ارزش اخباری تفاوت‌هایی مشاهده گردید که می‌تواند به علت استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی مختلف و جمعیت‌های مورد بررسی متفاوت باشد.

مطالعه Fernandes da Silva و همکاران با موضوع ارتباط سطح سرمی فاکتور رشد اندوتلیوم عروقی با حاملگی خارج از رحمی به بررسی  $72$  زن با سن بارداری زیر  $7/5$  هفته که  $35$  نفر حاملگی خارج از رحمی،  $15$  نفر سقط و  $22$  نفر بارداری طبیعی داشتند پرداخته است، که این افراد از لحاظ سن بارداری همسان بودند (24). نتایج آن‌ها نشان می‌دهد که سطح سرمی VEGF به طور معنی‌داری در زنان با حاملگی خارج از رحمی (میانگین  $211/1$  پیکوگرم بر میلی‌لیتر و دامنه  $1017-5$ ) نسبت به زنان با بارداری طبیعی (میانگین  $5$  پیکوگرم بر میلی‌لیتر با دامنه  $310/6-5$ ) بالاتر بوده است ( $P < 0/001$ ). غلظت سرمی VEGF در بین زنان با سقط (میانگین  $231/9$  پیکوگرم بر میلی‌لیتر با دامنه  $813/7-5$ ) و حاملگی خارج از رحمی (میانگین  $211/1$  پیکوگرم بر میلی‌لیتر و دامنه  $1017-5$ ) تفاوت آماری معنی‌داری نداشته است. استفاده از نقطه برش  $200$  برای سطح سرمی VEGF با حساسیت  $51/4$  درصد، ویژگی  $90/9$  درصد و ارزش اخباری مثبت  $90$  درصد حاملگی خارج از رحمی را از حاملگی طبیعی افتراق داد. بین حاملگی خارج از رحمی و سقط حساسیت  $51/4$  درصد، ویژگی  $42/8$  درصد و ارزش اخباری مثبت  $69/2$  درصد بوده است. در مطالعه دیگری که توسط Felemban و همکاران در سال  $2002$  با موضوع VEGF سرمی به عنوان مارکر احتمالی حاملگی خارج از رحمی به بررسی غلظت VEGF سرمی در  $45$  زن در اوایل حاملگی انجام شد،  $15$  حاملگی خارج از رحمی به عنوان گروه مورد،  $15$  زن با حاملگی داخل رحمی طبیعی و  $15$  زن با حاملگی ایستای (arrested) داخل رحمی به عنوان شاهد بودند (12). غلظت سرمی  $200$  پیکوگرم بر میلی‌لیتر به عنوان نقطه برش استفاده شده است. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که تفاوت آماری معنی‌داری در غلظت سرمی VEGF در زنان با حاملگی خارج از رحمی نسبت به دو گروه دیگر (حاملگی داخل رحمی طبیعی و غیر طبیعی) وجود داشته است ( $306/1 \pm 26/5$  در مقابل  $169/7 \pm 16/6$  و

27/0±4/4 (P<0/001). در نقطه برش 200 پیکوگرم بر میلی لیتر VEGF سرمی، حساسیت 88 درصد، ویژگی 100 درصد و ارزش اخباری مثبت 100 درصد به دست آورده‌اند.

در مطالعه Daniel و همکاران نیز با موضوع سطح VEGF در بیماران حاملگی خارج از رحمی که به بررسی 20 زن با حاملگی خارج از رحمی و 10 زن با حاملگی غیرطبیعی داخل رحمی پرداخته است، نشان می‌دهد زنان با حاملگی خارج از رحمی سطوح سرمی VEGF بالاتری نسبت به زنان با حاملگی داخل رحمی طبیعی و زنان با حاملگی داخل رحمی غیر طبیعی دارند (به ترتیب 226/8، 24/4 و 59/4 پیکوگرم در میلی لیتر) (26). با نقطه برش 200 پیکوگرم بر میلی لیتر، VEGF سرمی می‌توانست حاملگی خارج از رحمی را از داخل رحمی با حساسیت 60 درصد، ویژگی 90 درصد و ارزش اخباری مثبت 86 درصد افتراق دهد. در مطالعه دیگری که توسط Caber و همکاران با موضوع ارتباط یافته‌های سونوگرافی و سطح سرمی فاکتور رشد اندوتلیوم عروقی در حاملگی لوله‌ای به بررسی پنجاه نفر پرداخته شد، نتایج نشان داد که بین یافته‌های تصویری سونوگرافی و غلظت سرمی VEGF ارتباط معناداری وجود دارد. به طوری که رویان‌های خارج رحمی با فعالیت قلب با سطوح بالاتری از VEGF در ارتباط بوده است (28).

از طرفی مطالعه دیگر مطالعه Kucera و همکاران با موضوع فاکتور رشد اندوتلیومی عروق و افتراق بین حاملگی داخل رحمی غیرطبیعی و حاملگی خارج از رحمی به بررسی سطح سرمی VEGF پرداخته و نشان داده شد که غلظت سرمی نمی‌تواند به افتراق بین زنان با حاملگی داخل رحمی غیرطبیعی (میانگین 198/5 پیکوگرم/میلی لیتر با دامنه 0-701/6) و حاملگی خارج از رحمی (میانگین 211/2 پیکوگرم/میلی لیتر با دامنه 0-628/8) کمک کند. در صورت استفاده از نقطه برش بیش‌تر از

200 پیکوگرم/میلی لیتر سطح VEGF سرمی می‌تواند با حساسیت 56 درصد، ویژگی 51 درصد و ارزش اخباری مثبت 53 درصد حاملگی داخل رحمی غیرطبیعی و حاملگی خارج رحمی را افتراق دهد (11). جمعیت مورد بررسی در مطالعه مذکور بین بارداری غیر طبیعی داخل رحمی و بارداری خارج رحمی بود، با این وجود سطح سرمی VEGF با حساسیت و ویژگی کم‌تر قابلیت تفکیک نسبی داشته است. اگرچه این مقایسه در مطالعه حاضر انجام نشده است اما یافته‌های این مطالعات در تقویت نتایج به دست آمده مطالعه حاضر می‌باشد. اخیراً یک مطالعه توسط Rausch و همکاران نشان داد که استفاده از یک الگوریتم دو مرحله با چهار مارکر (پروژسترون، VEGF، inhibin A و activin A) می‌تواند با دقت 99 درصد حاملگی نابجا را افتراق داد (29). این شواهد نشان می‌دهد که حتی اگر نتوان از VEGF به تنهایی استفاده کرد، می‌تواند در ترکیب با سایر مارکرها کمک کننده باشد.

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به عدم امکان بررسی زنان با حاملگی داخل رحمی غیرطبیعی، و تک مرکزی بودن مطالعه اشاره کرد.

نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که سطح سرمی VEGF می‌تواند در افتراق حاملگی لوله‌ای از حاملگی طبیعی با حساسیت و ویژگی مناسبی کمک کننده باشد. با این وجود مطالعات بیش‌تری برای تعیین قدرت تشخیصی این مارکر در افتراق حاملگی‌های طبیعی و غیرطبیعی داخل رحمی نیاز می‌باشد.

### سپاسگزاری

در انتها نویسندگان این مقاله قدردانی خود را از حمایت‌های مالی و معنوی واحد توسعه تحقیقات بالینی بیمارستان امام خمینی ساری و دانشگاه علوم پزشکی مازندران اعلام می‌دارند.



## References

- Walker JJ. Ectopic pregnancy. *Clin Obstet Gynecol* 2007; 50(1): 89-99.
- Oktay K, Brzyski RG, Miller EB, Krugman D. Association of serum beta-hCG levels with myosalpingeal invasion and viable trophoblast mass in tubal pregnancy. *Obstet Gynecol* 1994; 84(5): 803-806.
- Senapati S, Sammel MD, Butts SF, Takacs P, Chung K, Barnhart KT. Predicting first trimester pregnancy outcome: derivation of a multiple marker test. *Fertil Steril* 2016; 106(7): 1725-1732. e3.
- Bouyer J, Coste J, Shojaei T, Pouly JL, Fernandez H, Gerbaud L, et al. Risk factors for ectopic pregnancy: a comprehensive analysis based on a large case-control, population-based study in France. *Am J Epidemiol* 2003; 157(3): 185-194.
- Pereira PP, Cabar FR, Raiza LC, Roncaglia MT, Zugaib M. Emergency contraception and ectopic pregnancy: report of 2 cases. *Clinics (Sao Paulo)* 2005; 60(6): 497-500.
- Cabar FR, Pereira PP, Zugaib M. Intrauterine pregnancy after salpingectomy for tubal pregnancy due to emergency contraception: a case report. *Clinics (Sao Paulo)* 2007; 62(5): 641-642.
- Rausch ME, Barnhart KT. Serum biomarkers for detecting ectopic pregnancy. *Clin Obstet Gynecol* 2012; 55(2): 418-423.
- Memtsa M, Jurkovic D, Jauniaux E; Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Diagnostic Biomarkers for Predicting Adverse Early Pregnancy Outcomes: Scientific Impact Paper No. 58. *BJOG* 2019; 126(3): e107-e113.
- Daponte A, Pournaras S, Zintzaras E, Kallitsaris A, Lialios G, Maniatis AN, et al. The value of a single combined measurement of VEGF, glycodelin, progesterone, PAPP-A, HPL and LIF for differentiating between ectopic and abnormal intrauterine pregnancy. *Hum Reprod* 2005; 20(11): 3163-3166.
- Mueller MD, Raio L, Spoerri S, Ghezzi F, Dreher E, Bersinger NA. Novel placental and nonplacental serum markers in ectopic versus normal intrauterine pregnancy. *Fertil Steril* 2004; 81(4): 1106-1111.
- Kucera-Sliutz E, Schiebel I, Konig F, Leodolter S, Sliutz G, Koelbl H. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and discrimination between abnormal intrauterine and ectopic pregnancy. *Hum Reprod* 2002; 17(12): 3231-3234.
- Felemban A, Sammour A, Tulandi T. Serum vascular endothelial growth factor as a possible marker for early ectopic pregnancy. *Hum Reprod* 2002; 17(2): 490-492.
- Horne AW, Shaw JL, Murdoch A, McDonald SE, Williams AR, Jabbour HN, et al. Placental growth factor: a promising diagnostic biomarker for tubal ectopic pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96(1): E104-E108.
- Mol BW, Lijmer JG, Ankum WM, van der Veen F, Bossuyt PM. The accuracy of single serum progesterone measurement in the diagnosis of ectopic pregnancy: a meta-analysis. *Hum Reprod* 1998; 13(11): 3220-3227.
- Memtsa M, Jurkovic D, Jauniaux E, Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Diagnostic Biomarkers for Predicting Adverse Early Pregnancy Outcomes: Scientific Impact Paper No. 58. *BJOG* 2019; 126(3): e107-e113.
- Ferrero S, Anserini P, Remorgida V, Ragni N. "Triple marker" for ectopic pregnancy. *Fertil Steril* 2004; 82(4): 986-987.

17. Segal S, Mercado R, Rivnay B. Ectopic pregnancy early diagnosis markers. *Minerva Ginecol* 2010; 62(1): 49-62.
18. Cabar FR, Kamio Teshima DR, Pereira PP, Antonangelo L, Schultz R, Francisco RP. Serum concentration of vascular endothelial growth factor and depth of trophoblastic invasion in ampullary ectopic pregnancy. *Clinics (Sao Paulo)* 2016; 71(12): 699-702.
19. Horne AW, Shaw JL, Murdoch A, McDonald SE, Williams AR, Jabbour HN, Duncan WC, Critchley HO. Placental growth factor: a promising diagnostic biomarker for tubal ectopic pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96(1): E104-E108.
20. Cabar FR, Fettback PB, Pereira PP, Zugaib M. Serum markers in the diagnosis of tubal pregnancy. *Clinics (Sao Paulo)* 2008; 63(5): 701-708.
21. Senapati S, Sammel MD, Butts SF, Takacs P, Chung K, Barnhart KT. Predicting first trimester pregnancy outcome: derivation of a multiple marker test. *Fertil Steril* 2016; 106(7): 1725-1732.e3.
22. Clark DE, Smith SK, Sharkey AM, Charnock-Jones DS. Localization of VEGF and expression of its receptors flit and KDR in human placenta throughout pregnancy. *Hum Reprod* 1996; 11(5): 1090-1098.
23. Fritz MA, Leon Speroff. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. 8<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2011.
24. Fernandes da Silva MO, Elito J, Jr, Daher S, Camano L, Fernandes Moron A. Association of serum levels of vascular endothelial growth factor and early ectopic pregnancy. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2013; 40(4): 489-491.
25. Wolman I. *Berek and Novak's Gynecology* 15th Edition: Lippincott Williams and Wilkins, 2012, 1560 pp, Hardcover, Rs. 2659 on www.flipkart.com, ISBN-139788184736106, ISBN-10818473610X (Book Review). *J Obstet Gynaecol* 2014; 64(2): 150-151.
26. Daniel Y, Geva E, Lerner-Geva L, Eshed-Englender T, Gamzu R, Lessing JB, et al. Levels of vascular endothelial growth factor are elevated in patients with ectopic pregnancy: is this a novel marker? *Fertil Steril* 2000; 72(6): 1013-1017.
27. Ugurlu EN, Ozaksit G, Karaer A, Zulfikaroglu E, Atalay A, Ugur M. The value of vascular endothelial growth factor, pregnancy-associated plasma protein-A, and progesterone for early differentiation of ectopic pregnancies, normal intrauterine pregnancies, and spontaneous miscarriages. *Fertil Steril* 2009; 91(5): 1657-1661.
28. Cabar FR, Pereira PP, Schultz R, Francisco RP, Zugaib M. Association between ultrasound findings and serum levels of vascular endothelial growth factor in ampullary pregnancy. *Fertil Steril* 2015; 103(3): 734-737.
29. Rausch ME, Sammel MD, Takacs P, Chung K, Shaunik A, Barnhart KT. Development of a multiple marker test for ectopic pregnancy. *Obstet Gynecol* 2011; 117(3): 573-582.