

İkinci Trimester Amniyos Sıvı C-Reaktif Protein ve Leptin Değerlerinin Erken Doğumu Öngörmedeki Rolü

The Role of Amniotic Fluid C-Reactive Protein and Leptin at Second Trimester in the Prediction of Preterm Delivery

Dr. Banu DANE,^a
Dr. Nida ERGİN,^a
Dr. Yasemin DÖVENTAŞ,^b
Dr. Murat KIRAY,^a
Dr. Ahmet ÇETİN,^a
Dr. Murat YAYLA^a

^aKadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği,
^bBiyokimya Bölümü,
Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
İstanbul

Geliş Tarihi/Received: 31.07.2008
Kabul Tarihi/Accepted: 15.10.2008

Yazışma Adresi/Correspondence:
Dr. Banu DANE
Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Kadın Hastalıkları ve
Doğum Kliniği, İstanbul
TÜRKİYE/TURKEY
banudane@yahoo.com

ÖZET Amaç: Gebeliğin ilk yarısında bulunan intrauterin enfeksiyonun erken doğuma yol açabilecek bir durum olduğu öne sürülmektedir. Leptin, sitotroblastik hücrelerin invazyon özelliğini belirlemektedir. İnvazyon eksikliği durumunda amnios sıvısına salgılanan leptin seviyesi artmaktadır. Bu çalışmanın amacı, amniyos sıvı C-Reaktif Protein (CRP) ve leptin değerlerinin erken doğumu öngörmede etkinliğini belirlemektir. **Gereç ve Yöntemler:** Bu prospektif çalışmaya 71 gebe dahil edildi. Amniyos sıvı CRP ve leptin değerleri genetik amniyosentez sırasında belirlendi. Verilerin karşılaştırılması Student t-testi ve receiver-operating characteristic (ROC) eğrisi analizi yolu ile yapıldı. **Bulgular:** Tamamlanmış 37. Gebelik haftasından önce spontan doğum sıklığı %8.4 (6 olgu) idi. Erken ve miadında doğum yapan gruplar arasında ortalama CRP değeri açısından anlamlı fark izlenmedi (0.45 ve 0.4 mg/L, p= 0.59). Ortalama leptin değerleri de gruplar arasında fark göstermemekteydi (18 ve 12 ng/mL, p= 0.28). Yapılan ROC eğrisi değerlendirmesinde amniyos sıvı CRP ve leptin değerlerinin erken doğumu öngörmede etkin olmadığı belirlendi (her iki grupta AUC= 0.57). **Sonuç:** Genetik amniyosentez yapılan hastalarda erken doğumu öngörebilmek amaçlı amniyos sıvı CRP ve/veya Leptin değerlerinin belirlenmesinin gebelik takibinde fayda sağlamaya-cağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: CRP, amniyosentez, erken doğum, leptin, amniyos

ABSTRACT Objective: A preexisting intrauterine inflammation in the first half of gestation has been proposed as a possible condition that leads to preterm delivery. Leptin is a modulator of invasive property of cytotrophoblastic cells. Invasion defect increases leptin concentrations secreted into the amniotic fluid. The aim of this study was to investigate whether amniotic fluid CRP and leptin concentrations are markers of preterm delivery. **Material and Methods:** Seventy one singleton pregnancies were included in this prospective study. Amniotic fluid CRP and leptin concentrations were determined at the time of genetic amniocentesis. Comparison of the data was done with student t test and Receiver-operating characteristic (ROC) curve analysis. **Results:** The prevalence of spontaneous preterm delivery before 37 weeks of gestation was 8.4%. The mean CRP levels were not different in preterm and term group (0.45 vs. 0.4 mg/L, p= 0.59). The mean leptin levels were also not different in two groups (18 vs.12 ng/mL, p= 0.28). ROC analysis revealed that amniotic fluid CRP and leptin levels did not have any significant power in the prediction of preterm delivery (AUC <0.5 in both of the groups). **Conclusions:** The determination of CRP and or leptin concentrations of amniotic fluid at second trimester genetic amniocentesis in order to predict preterm delivery is not beneficial in the antenatal care.

Key Words: C-reactive protein, amniocentesis, premature birth, leptin, amnion

Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst 2009;19(1):16-20

Preterm eylem, doğum hekimliğinin başlıca sorunlarından biridir. Neonatal mortalite ve morbiditenin en önde gelen nedenidir. Preterm doğum nedenleri arasında intrauterin enfeksiyon suçlanan faktörlerden biridir. Plasental zarlarda subklinik enfeksiyonun; koryoamniyal zarlar açılmadan önce ve sonra oluşan koryoamniyonitisin ve histolojik enfeksiyonun

etiyojideki rolü giderek ağırlık kazanmaktadır.^{1,2} İntrauterin enfeksiyon, maternal enfeksiyon bulgusu olmadan, erken doğum olgularının %15-25'de görülür.³ Amniyotik sıvıda sitokinlerin ve prostaglandinlerin preterm eylem, intrauterin enfeksiyon ve histolojik koryoamniyonit ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir.^{4,6}

C-reaktif protein (CRP) temel olarak karaciğerden, değişik enfeksiyonlardan kaynaklanan sitokinler sonucu salınır. Hızlı sentezi ve parçalanması nedeni ile, iltihabi etkinliğin özgün bir göstergesidir.⁷

Erken gebelik döneminde, sitotroblastik hücreler endometriyumun içine kadar girer, leptin üretir ve de bunu doğrudan amniyotik sıvıya salgırlar.^{8,9} Bu nedenle, leptin sitotroblastik hücrelerin invaziv özelliğinin önemli bir modülatörü gibi rol oynar.¹⁰ Son zamanlarda yapılmış bir çalışmada, artmış plazma leptin konsantrasyonlarının intrauterin gelişme geriliği olan fetuslarda intrauterin fetal distresle ilişkisi saptanmıştır.¹¹

Bu çalışmanın bir amacı, erken doğumun başlamasında önemli olduğu düşünülen erken gebelik dönemindeki subklinik enfeksiyon ve erken fetal inflamatuvar cevabın değerlendirilmesi ve CRP'nin prediktif etkisinin belirlenebilmesidir. CRP'ye ek olarak, biyokimyasal bir yöntem olarak, genetik amaçlı alınan amniyosentezde çalışılan leptin düzeylerinin erken doğum ile bağlantısının kurulup kurulamayacağı incelendi.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Olgular, Ocak 2007-Aralık 2007 tarihleri arasında Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Perinataloji Polikliniğinde genetik amaçlı amniyosentez yapılma endikasyonu konan ve bu amaçla amniyosentez uygulanan gebeler arasından seçildi.

Çalışmaya dahil olma kriterleri: Tekil gebelik, 16.-20. gestasyonel hafta, işlemden önce komplike olmayan gebelik sürecinin olması, bilinen herhangi bir enfeksiyon hastalığının veya otoimmün hastalığının olmaması, önceki gebeliklerinde preterm doğum, geç abortus ve geç gebelik kaybı öyküsünün olmaması idi.

Kriterlere uygun olguların son adet tarihlerine göre hesaplanan gestasyonel yaşları, ultrasonografik (USG) ölçümlerle doğrulandı. Tüm olguların yazılı bilgilendirilmiş onayı alındı. Çalışmamız hastanemiz Etik Kurulu'ndan onay aldı. Amniyosentez sonrası kromozomal anomali tespit edilen ve spontan preterm eylem dışında maternal ya da fetal nedenler ile gebeliği erken sonlandırılan olgular çalışma dışı bırakıldı.

Amniyosentez işlemi transabdominal yol ile 22 gauge iğne ile USG eşliğinde serbest el tekniği kullanılarak uygulandı. İlk 2 cc'lik örnek steril enjektörlerle CRP ve leptin çalışılması için alındı. İşlem sonrası 1 saat içerisinde laboratuvara gönderildi. Hastalar işlem sonrası gebelik takibi ve doğum haftalarının belirlenebilmesi amacıyla takibe alındı. Çalışmanın protokolü hastanemiz Etik Kurulu'na sunulmuş onay alındı.

Elde edilen verilerin analizinde Windows için SPSS paket programında Student t-test, receiver-operator characteristic curve ve Spearman korelasyon analizi kullanıldı. p değerinin < 0.05 olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Toplam bir yıllık çalışma süresinde kliniğimiz perinatoloji bölümünde genetik tayin amacıyla amniyosentez yapılan 81 gebe değerlendirildi. Bu olgulardan beşinde kromozomal anomaliler (Trisomi 21 2 olgu, Trisomi 22 1 olgu, Trisomi 18 1 olgu, Turner 1 olgu) saptandı. İki olguda majör anomali, beş olguda kromozom anomalisi nedeni ile tıbbi tahliye gerçekleştirildi. Üç olgunun akıbeti hakkında bilgiye ulaşılamadı. Çalışma 71 olgu ile tamamlandı.

Gebelerin 6 (%8.45)'sı 37. gebelik haftası tamamlanmadan doğum yaptı. Erken doğumlar 33 - 37 haftalar arasında gerçekleşti, bu olguların biri < 34. gebelik haftasında idi. Gruplar arasında ortalama anne yaşı, parite sayısı, vücut kitle indeksi (VKİ), amniyosentez haftası, CRP ve leptin değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi (Tablo 1). Amniyos sıvı CRP ve leptin değerlerinin erken doğumu öngörmede etkinliğini belirlemek amacıyla receiver-operator characteris-

TABLO 1: Miadında ve erken doğum yapan gebelerin demografik bilgileri, ortalama CRP ve leptin değerleri.

	Preterm grubu		Term grubu		p
	Ortalama	SS	Ortalama	SS	
Anne yaşı	31.67	6.41	33.95	5.98	0.35
Parite sayısı	1.83	0.98	2.12	1.21	0.68
VKİ	26.50	3.78	26.65	2.70	0.91
AS haftası	19.17	1.60	18.14	1.69	0.10
CRP	0.4	0.2	0.458	0.224	0.59
Leptin	18.12	15.85	12.42	13.27	0.32

SS: Standart sapma, VKİ: Vücut-kitle indeksi, AS: Amniyosentez.

tic (ROC) eğrisi analizi yapıldı (Şekil 1, 2). Bu bulgularla ile amniyos sıvıda erken doğumun öngörüsünü sağlayacak bir CRP ve leptin değeri elde edilemedi. Ayrıca CRP ve leptin değeri ile diğer parametreler (yaş, parite, VKİ, amniyosentez haftası, doğum haftası, doğum kilosu) arasındaki ilişki değerlendirilerek bildirildi (Tablo 2, 3).

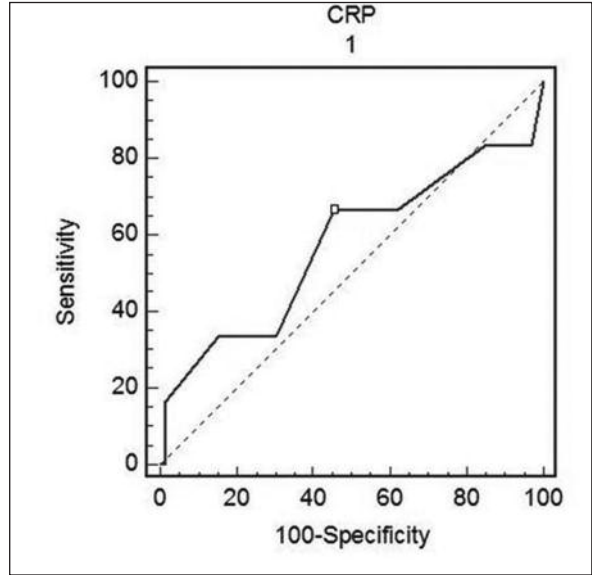
TARTIŞMA

Pek çok çalışmada preterm doğum ve prematür membran rüptürü olan son trimester gebede, intrauterin inflamasyon ve enfeksiyonun rolü araştırılmıştır. Bununla birlikte son dönemlerde subklinik intrauterin inflamatuvar sitokin cevabının gebeliğin erken dönemlerinde de oldukça önemli olabileceğine dair kanıtlar artmıştır.¹²

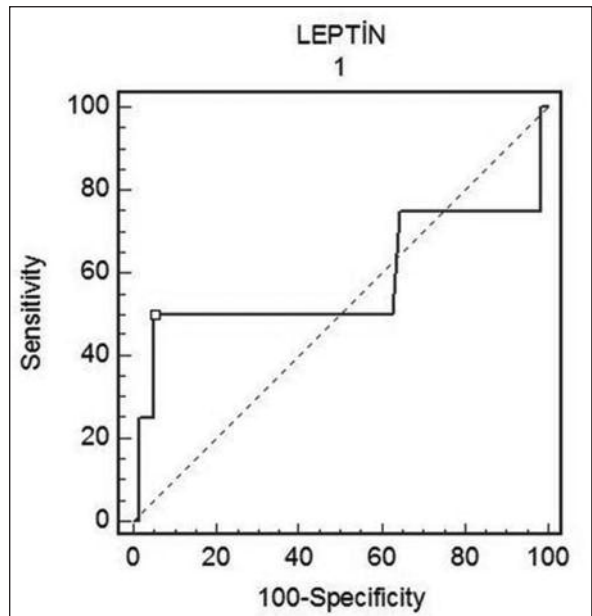
CRP plasental bariyeri geçemeyecek kadar (106 kd) büyük moleküler ağırlıklı bir proteindir. Doğumda sepsis tanısı almış fetusların plazmalarında CRP yüksek konsantrasyonda bulunmuştur.¹³ Fetal karaciğer inflamatuvar saldırıya cevaben akut faz proteinleri üretebilme kapasitesindedir. Fetal böbrekler erken gebelik döneminde olgun halde olmadıklarından yüksek kütleli molekülleri daha çok geçirebilirler. Diğer bir hipotez de subklinik renal inflamatuvar hadisenin fetal böbreklerin geçirgenlik kapasitesini değiştirmesidir. Sağlıklı insanların idrarında CRP ölçülemeyecek kadar az iken sepsis ve üriner sistem enfeksiyonu durumunda CRP idrarda ölçülebilecek duruma gelir.

Gebeliğin çok erken döneminde olan intrauterin bir inflamasyonda fetusun olaya subklinik inflamatuvar yanıtı artırarak katılması bir teoridir.

Yapılan bir çalışmada genetik amniyosentez sırasında (16-20. gebelik haftaları arasında) tespit edilen yüksek CRP değeriyle (> 110 ng/mL) 34. gebelik haftasından önce doğum olasılığının %80.8 duyarlılık, %69.5 özgüllük ile öngörülebileceği sonucuna ulaşılmıştır.¹⁴ Özer ve ark.nın çalışmasında ise, amniyos sıvıda CRP değeri 0.65 mg/L sınır alındığında 37. gebelik haftasından önce doğumu



ŞEKİL 1: Erken doğum ve amniyos mayii CRP ilişkisini değerlendiren ROC eğrisi (AUC= 0.571; p= 0.578).



ŞEKİL 2: Erken doğum ve amniyos mayii leptin ilişkisini değerlendiren ROC eğrisi (AUC= 0.578; p= 0.578).

TABLO 2: CRP değerinin diğer parametreler ile ilişkilendirilmesi.

	CRP	
	r	p
Yaş	0.155	0.196
Parite	0.176	0.142
VKİ	0.124	0.304
AS haftası	-0.166	0.165
Doğum haftası	0.055	0.647
Doğum kilosu	0.082	0.497

VKİ: Vücut kitle indeksi, AS: Amniyosentez.

TABLO 3: Leptin değerinin diğer parametreler ile ilişkilendirilmesi.

	CRP	
	r	p
Yaş	0.058	0.633
Parite	-0.018	0.880
VKİ	0.088	0.465
AS haftası	--0.238	0.045
Doğum haftası	-0.112	0.353
Doğum kilosu	-0.151	0.209

VKİ: Vücut kitle indeksi, AS: Amniyosentez.

öngörmedeki duyarlılığı %92.9 ve özgüllüğü %78.7 olarak bildirilmiştir.¹⁵

Aynı tarihte başka bir merkezde, daha fazla olgu üzerinde yapılan bir değerlendirme sonucunda ise Tarım ve ark., erken doğum sıklığı önceki çalışma ile benzer olan gebelerde (%9.3 ve %9.9) amniyos sıvı CRP değerinin miadında ve erken doğum yapan gruplar arasında anlamlı fark göstermediğini tespit ettiler.¹⁶ Bizim çalışmamızda da erken doğum sıklığı bu çalışmalarda bildirilen ile uyumlu idi (%8.4). Erken ve miadında doğum yapan gebelerin oluşturduğu gruplar arasında ortalama CRP değeri açısından fark tespit edilemedi.

İskemi varlığının erken doğuma yol açabileceğini çeşitli belirteçlerin araştırılması yoluyla gösteren yayınlar literatürde mevcuttur.¹⁷⁻¹⁹ Madazlı ve ark.nın çalışmasında da ikinci trimesterde yapılan genetik amniyosentez sırasında belirlenen iskemi belirteci olan angiogeninin erken doğumu öngörmede etkin olduğu bildirilmiştir.²⁰ Erken gebelik kayıplarında çöломik sıvıda

tespit edilen yüksek leptin değerlerinin plasentasyon sırasında oksijenasyon bozukluğu sonucunda fetal ölümün gerçekleştiğinin göstergesi olabileceği öne sürülmüştür.²¹

Chan ve ark., amniyos sıvı leptin değerinin preeklampsiyi öngörmedeki yerini araştırmak üzere yaptıkları çalışmada, ayrıca 400 gebe üzerinde leptin değerinin gebelik haftası, maternal vücut kitle indeksi (VKİ) ve fetal cinsiyet ile ilişkisini de değerlendirmişlerdir.²² Preeklampitik gebelerde ortalama leptin değeri normallere göre yüksek bulunmuştur. Amniyos sıvı leptin değerinin gebelik haftası ile azaldığı ve kız bebeklerde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bizim olgularımızda da leptin, gebelik haftası ile azalmaktadır. Ortalamanın literatürde bildirilenlerden bir miktar yüksek olması (15-18 ng/mL'ye karşılık 5-11 ng/mL) gebelik haftalarının farklı dağılımına bağlanabilir.

Miadında doğum yapan gebelerde yapılan bir çalışmada maternal serum, fetal kan ve amniyos sıvı leptin değerlerinin birbiriyle ilişkili olmadığı, bu birimlerin her birinin leptin için ayrı sentez ve yıkım mekanizmasının bulunduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca, maternal kan ve amniyos sıvı leptin değerlerinin fetal gelişim ile doğrudan ilgisinin olmadığı ve farklı işlevlerinin olabileceği öne sürülmüştür.²³ Bizim çalışmamızda da, amniyos sıvı leptin değeri doğum kilosu ile anlamlı ilişki göstermemektedir.

Erken doğumu öngörmek üzere tekiz gebelerde amniyosentezde leptin seviyelerinin bakılması ile ilgili olarak yapılmış bir çalışma yoktur. Chan ve ark.nın 18 ikiz gebe olgu üzerinde yaptıkları bir çalışmada, ikinci trimesterde tespit edilen yüksek amniyos sıvı leptin değerlerinin hem düşük doğum ağırlığı, hem de erken gebelik haftalarında doğum ile ilişkili olduğu saptanmıştır.²⁴ Bu çalışmada, "small for gestational age (SGA)" olan bebeklerin amniyos sıvı leptin değerlerinin normallere göre anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir (11.4 ± 1.5 ng/mL ve 5.4 ± 0.5 ng/mL, p < 0.001). Ayrıca SGA olan bebeklerden oluşan grupta doğum haftası da normallere göre düşük bulunmuştur (30.4 ± 1.4 ve 37.3 ± 0.5, p < 0.001).

Sitotrofoblastların invazyon defektinde amniyos sıvıda leptin seviyesi artmaktadır. Bu defekt fetusa hipoksik bir ortam hazırlamaktadır. Kronik hipoksik ortam fetusta gelişme geriliğine yol açmaktadır. Bizim erken doğum yapan olgularımızın tümünün gebelik haftasına göre normal kiloda olması, leptin değerlerinin miadında doğum yapanlardan fark göstermemesinin nedeni olabilir. Olgu sayısının daha fazla olduğu çalışmalar planlanarak amniyos sıvı leptin değeri ile erken doğum arasındaki ilişki araştırılmalıdır.

SONUÇ

Genetik amniyosentez yapılan hastalarda erken doğumu önceden belirleyebilmek amaçlı çalışmaların sensitivitesinin ve spesifitesinin yüksek olması, hem hastanın psikolojik durumu açısından, hem de doktorların gereksiz yere alacağı tedbirlerin önlenmesi açısından bu önemlidir. Sonuç olarak, ikinci trimesterde amniyos sıvı CRP ve leptin değerlerinin belirlenmesinin gebelik takibinde fayda sağlamayacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Meis PJ, Goldenberg RL, Mercer BM, Iams JD, Moawad AH, Miodovnik M, et al. Preterm pre-duction study: is socioeconomic status a risk factor for bacterial vaginosis in Black or in White women? *Am J Perinatol* 2000;17(1):41-5.
2. Creasy RK, Merkatz IR. Prevention of preterm birth: clinical opinion. *Obstet Gynecol* 1990; 76(1 Suppl):2-4.
3. Romero R, Sirtori M, Oyarzun E, Avila C, Mazor M, Callahan R, et al. Infection and labor. V. Prevalence, microbiology, and clinical significance of intraamniotic infection in women with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1989;161(3): 817-24.
4. Odibo AO, Rodis JF, Sanders MM, Borgida AF, Wilson M, Egan JF, et al. Relationship of amniotic fluid markers of intra-amniotic infection with histopathology in cases of preterm labor with intact membranes. *J Perinatol* 1999; 19(6 Pt 1):407-12.
5. Gonzales-Bosquet E, Cerqueira MJ, Dominguez C, Bermejo B, Cabero L. Amniotic fluid glucose and cytokines values in the diagnosis of amniotic infection in patients with preterm labor and intact membranes. *J Matern Fetal Med* 1999;8(4):155-8.
6. Yoon BH, Romero R, Moon JB, Shim SS, Kim M, Kim G, et al. Clinical significance of intra-amniotic inflammation in patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2001;185(5):1130-6.
7. Coultrop LL, Lien JM, Gomez R, Kapernick P, Khoury A. The value of amniotic fluid interleukin-6 determination in patients with preterm labor and intact membranes in the detection of microbial invasion of the amniotic cavity. *Am J Obstet Gynecol* 1994;171(4):901-11.
8. Bischof P, Meisser A, Campana A. Mechanisms of endometrial control of trophoblast invasion. *J Reprod Fertil Suppl* 2000;55:65-71.
9. Masuzaki H, Ogawa Y, Sagawa N, Hosoda K, Matsumoto T, Mise H, et al. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nat Med* 1997;3(9):1029-33.
10. Castellucci M, De Matteis R, Meisser A, Canello R, Monsurro V, Islami D, et al. Leptin modulates extracellular matrix molecules and metalloproteinases: possible implications for trophoblast invasion. *Mol Hum Reprod* 2000; 6(10):951-8.
11. Cetin I, Morpurgo PS, Radaelli T, Taricco E, Cortelazzi D, Bellotti M, et al. Fetal plasma leptin concentrations: relationship with different intrauterine growth patterns from 19 weeks to term. *Pediatr Res* 2000;48(5):646-51.
12. Lee SE, Romero R, Jung H, Park CW, Park JS, Yoon BH. The intensity of the fetal inflammatory response in intraamniotic inflammation with and without microbial invasion of the amniotic cavity. *Am J Obstet Gynecol* 2007;197(3):294e1-6.
13. Thompson PJ, Greenough A, Davies E, Nicolaides KH. Fetal C-reactive protein. *Early Hum Dev* 1993;32(2-3):81-5.
14. Ghezzi F, Franchi M, Raio L, Di Naro E, Bossi G, D'Eril GV, et al. Elevated amniotic fluid C-reactive protein at the time of genetic amniocentesis is a marker for preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 2002;186(2):268-73.
15. Özer KT, Kavak ZN, Gökaslan H, Elter K, Pekin T. Predictive power of maternal serum and amniotic fluid CRP and PAPP-A concentrations at the time of genetic amniocentesis for the preterm delivery. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005;122(2):187-90.
16. Tarım E, Bağış T, Kılıçdağ EB, Sezgin N, Yanık F. Are amniotic fluid C-reactive protein and glucose levels, and white blood cell counts at the time of genetic amniocentesis related with preterm delivery? *J Perinat Med* 2005;33(2):524-9.
17. Arias F, Rodriguez L, Rayne SC, Kraus FT. Maternal placental vasculopathy and infection: two distinct subgroups among patients with preterm labor and preterm ruptured membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1993;168(6): 585-91.
18. Spong CY, Ghidini A, Sherer DM, Pezzullo JC, Ossandon M, Eglinton GS. Angiogenin: a marker for preterm delivery in midtrimester amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176(2):415-8.
19. Kaymaz C, Demir N, Çımrın D, Altunyurt S, Saatlı B, Bige Ö. [The relationship between second trimester amniotic fluid interleukin-6, interleukin-8 and tumor necrosis factor alpha levels and preterm labor-preeclampsin]. *Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst* 2007;17: 292-7.
20. Madazlı R, Atış A, Uzun H, Aksu F. Mid-trimester amniotic fluid angiogenin, lactate dehydrogenase and fibronectin in the prediction of preterm delivery. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2003;106(2):160-4.
21. Makrydimas G, Vandecruys H, Sotiriadis A, Lakasing L, Spencer K, Nicolaides KH. Coelomic fluid leptin concentration in normal first-trimester pregnancies and missed miscarriages. *Fetal Diagn Ther* 2005;20(5):406-9.
22. Chan TF, Su JH, Chung YF, Hsu YH, Yeh YT, Yuan SS. Elevated amniotic fluid leptin levels in pregnant women who are destined to develop preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2006;85(2):171-4.
23. Öktem, Dedeoğlu N, Oymak Y, Sezen D, Köksal L, Pekin T, et al. Maternal serum, amniotic fluid and cord leptin levels at term: their correlations with fetal weight. *J Perinat Med* 2004; 32(3):266-71.
24. Chan TF, Chung YF, Chen HS, Su JH, Yuan SS. Elevated amniotic fluid leptin levels in early second trimester are associated with earlier delivery and lower birthweight in twin pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004; 83(8):707-10