

Sigaranın Birinci Trimester Tarama Testleri Üzerine Etkisi

Effect of Smoking on First Trimester Screening Tests

Leyla Demir* Serap Çuhadar** Tuğba Öncel**
Saliha Aksun* Figen Narin*

* İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

** İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Biyokimya, İzmir, Türkiye

Başvuru Tarihi: 30 Eylül 2021

Kabul Tarihi: 15 Kasım 2021

ÖZET

Amaç: Birinci trimester tarama testleri günümüzde kromozomal anomalilerin tanısı için yaygın olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda laboratuvara başvuran gebelerde maternal sigara kullanımının ilk trimester tarama testleri üzerine olan etkisini araştırdık.

Gereç ve Yöntem: Sigara kullanan 700 ve sigara kullanmayan 200 olmak üzere toplamda 900 gebenin ilk trimester prenatal test sonuçları geriye dönük olarak tarandı. Tüm gebelerin maternal serum PAPP-A, serbest β - HCG, fetal CRL ve NT değerleri istatistiksel olarak değerlendirildi.

Bulgular: Sigara içen ve içmeyen grubun ilk trimester tarama testi parametreleri karşılaştırıldığında sadece PAPP-A değerinde ($p=0.023$) anlamlı fark bulundu. Yaş ($p=0.088$), PAPP-A MoM ($p=0.981$), serbest β - HCG ($p=0.668$), serbest β - HCG MoM ($p=0.782$), NT MoM ($p=0.398$) ve CRL ($p=0.210$) değerleri iki grup arasında anlamlı fark göstermedi.

Sonuç: Gebelerde sigara kullanımı ilk trimester tarama test parametrelerinden maternal serum PAPP-A düzeyini düşürmektedir. Düşük serum PAPP-A düzeyi kromozomal anomaliler yanında gebelerde erken doğum, gebelik kaybı ve düşük doğum ağırlığı gibi diğer gebelik komplikasyonları ile ilişkilendirilmektedir. Sonuç olarak, düşük serum PAPP-A düzeyine sahip gebelerin klinik açıdan daha yakından takip edilmesinin yararlı olabileceği kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: Prenatal tarama, sigara, PAPP-A, serbest β -HCG

Leyla Demir : <https://orcid.org/0000-0001-9174-8935>
Serap Çuhadar : <https://orcid.org/0000-0001-7093-5731>
Tuğba Öncel : <https://orcid.org/0000-0002-3167-0432>
Saliha Aksun : <https://orcid.org/0000-0002-7991-1645>
Figen Narin : <https://orcid.org/0000-0003-2643-9575>

Yazışma adresi: Leyla Demir
İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp
Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı,
İzmir, Türkiye
E-mail: argunleyla@gmail.com

ABSTRACT

Objective: First trimester screening tests are widely used for the diagnosis of chromosomal anomalies. In our study, we investigated the effect of maternal smoking on first trimester screening tests in pregnant women who applied to our laboratory.

Material and Methods: First trimester prenatal test results of a total of 900 pregnant women, 700 smokers and 200 non-smokers, were retrospectively collected. Maternal serum PAPP-A, free β -HCG, fetal CRL and NT values of all pregnant women were compared statistically.

Results: When the first trimester screening test parameters of the smoker and non-smoker groups were compared, only a significant difference was found in the PAPP-A value ($p = 0.023$). Age ($p = 0.088$), PAPP-A MoM ($p = 0.981$), free β -HCG ($p = 0.668$), free β -HCG MoM ($p = 0.782$), NT MoM ($p = 0.398$) and CRL ($p = 0.260$) values did not differ significantly between the two groups.

Conclusion: Smoking in pregnant women decreases maternal serum PAPP-A level, one of the first trimester screening test parameters. Low serum PAPP-A level has been associated with chromosomal anomalies and other pregnancy complications such as preterm birth, pregnancy loss and low birth weight. As a conclusion, it may be beneficial to follow the pregnant women with low serum PAPP-A levels clinically more closely.

Key words: Prenatal screening, smoking, PAPP-A, free β -HCG

GİRİŞ

Gebelerde tarama testlerinin ilk uygulanmaya başladığı 70'li yıllardan günümüze bu alanda çok sayıda ilerleme kaydedilmiştir. Seksenli yıllarda Down sendromunun bazı spesifik serum belirteçlerinin anormal düzeyleriyle ilişkisi keşfedilmiş ve maternal serum taraması geliştirilmiştir (1,2). Down sendromlu bebek sahibi gebelerde serum alfa-fetoprotein düzeylerinin normal gebeliklere göre %25 daha düşük gelmesinin rapor edilmesi ile birlikte tarama testleri 35 yaş altına da uygulanmaya başlanmıştır (3,4).

İlk trimester taraması, 10 ila 13 hafta 6 gün arasında gerçekleştirilen, ense kalınlığının ultrasonografik incelenmesi ve serum taramasını içeren, yaygın olarak kullanılan tarama testidir. Serbest β -HCG ve PAPP-A (pregnancy associated plasma protein A)'yı içeren serum belirteçleri çalışılarak anne yaşı, gebelik özgeçmişi, fetüs sayısı, ağırlık, ense kalınlığı, sigara kullanımı verilerinin de eklenmesiyle risk belirlenmesi işlemi yapılmaktadır. İkili tarama testinin avantajı erken verilerle gerektiğinde ileri tetkik ve olası gebelik sonlandırılması için zaman tanımasıdır (5-7).

Düşük serum PAPP-A düzeyi ve yüksek serbest β -HCG düzeyleri Down sendromu riski ile ilişkilendirilmektedir (8). Gebe kadınların serumlarından izole edilen PAPP-A, bir

metalloproteinazdır. Trofoblastlar ve desidual hücreler tarafından yüksek miktarlarda üretilirken, fibroblast, osteoblast gibi diğer hücreler tarafından da üretilmektedir. Gebelikte PAPP-A düzeyleri 28. günden itibaren yükselmeye başlamaktadır(9). PAPP-A, enzim özelliği ile insülin benzeri büyüme faktörü bağlama proteinini (IGFBP) parçalayarak gebelikte önemli büyüme hormonu olan insülin benzeri büyüme faktörü (IGF)'nin etkinliğini belirlemektedir. Kadınlardaki ilk trimesterde görülen düşük PAPP-A düzeyleri artmış erken doğum riski, preeklampsi, fetal büyüme geriliği ile ilişkilendirilmektedir (10).

İnsan koriyonik gonadotropini (HCG) ağırlıklı olarak plasental sinsityotrofoblastlardan üretilmektedir (10). Gebeliğin başlangıcı ve devamı için HCG birçok plasental, fetal ve uterin görev üstlenmektedir. Bu görevlerden bazıları; sinsityotrofoblastların gelişmesi, endometriumun mitotik büyümesi ve farklılaşması, maternal immün sistemin lokalize baskılanmasıdır (11). 1987 yılında Bogart ve arkadaşlarının Down sendromlu gebeliklerde yükselmiş maternal serum HCG düzeylerini rapor etmelerinden sonra HCG çoğu tarama programında yer almıştır (12).

Gebelik süresince anne adayları tarafından sigara kullanımı, fetüsün etkilendiği önemli çevresel risk faktörlerinden biridir. Sigara yapısında bulunan karbon monoksit, kadmi-

yum ve polisiklik aromatik hidrokarbonlar gibi toksik bileşenlerin çoğu plasental bariyeri aşarak fetüsü direkt veya indirekt olarak etkileyebilmektedir. Sigara kullanımı ile düşük doğum kilosu arasında güçlü bir ilişki olduğuna dair çeşitli yayınlar vardır (13-15).

Çalışmamızda hastanemize başvuran gebelere uygulanan ilk trimester tarama testlerine sigaranın etkisini incelemeyi hedefledik. Bunun için ölçtüğümüz PAPP-A, PAPP-A (MoM), serbest β -HCG, serbest β -HCG MoM, NT MoM, CRL değerlerini ve sigara kullanımını değerlendirmeye aldık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hastanemizde maternal serum PAPP-A, serbest β -HCG, fetal CRL ve NT değerleri 10 hafta ile 13 hafta 6 gün arasında ölçülmektedir. Ultrasonografik ölçümlerin yapıldığı gün gebelerden kan alınarak serum parametreleri çalışılmaktadır. İkili tarama testleri için kullanılan biyokimyasal parametreler; PAPP-A ve serbest β -HCG IMMULITE 2000 (Siemens, USA) cihazında solid faz, kemiluminesans immunometrik sandviç yöntemi ile çalışılmaktadır. Gebelere ait bu veriler PRISCA 5.0 (Prenatal Risk Hesaplama, TYPOLOG Software/ GmBH, Hamburg, Almanya) paket programı ile değerlendirilmektedir.

Çalışmamızda İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Laboratuvarında Ocak 2018- Aralık 2019 yılları arasında çalışılan ilk trimester tarama testleri geriye dönük olarak tarandı. Toplamda 938 gebenin ilk trimester tarama testi sonuçları hastane bilgi yönetim sisteminden (Probel Bilgisayar Yazılım Donanım San Tic. A.Ş.) elde edildi. Gebelere ait gebelik yaşı, PAPP-A (mIU/ml) değeri, PAPP-A MoM değeri, serbest β -HCG(mIU/ml), serbest β -HCG MoM değeri, baş popo mesafesi(Crown-rump length, CRL), fetal ense saydamlık (NT) MoM değeri, yaş riski, biyokimyasal risk ve kombine risk değerleri kaydedildi. Sigara kullanıp kullanmama durumları sisteme kayıtlı anamnezler doğrultusunda değerlendirilerek gruplama yapıldı.

Doğal yollardan gebe kalmış, tekil gebelere ait sonuçlar çalışmaya dahil edilirken, in vitro fertilizasyon uygulanmış gebeler ve çoğul gebelikler çalışma dışı bırakıldı.

Araştırmamız İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Protokol No: 2019-GOKAE-1280).

İstatistik

Çalışmamızda sigara içen ve içmeyen gebelerden iki grup oluşturuldu. Grupların yaş ortalamaları ve gebelik süreleri independent samples *t*-test ile karşılaştırıldı. Grupların yaş ortalamaları ve gebelik süreleri eşitlenene kadar ($p>0.05$) 38 sigara içen gebe çalışmadan dışlandı (Tablo 1). Toplamda 900 gebenin (200 sigara içen, 700 sigara içmeyen) verileri değerlendirildi.

Tüm parametrelerin dağılımı Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. CRL verileri her iki grupta da normal dağıldığı için independent samples *t*- test ile karşılaştırıldı. PAPP-A, PAPP-A MoM, serbest β -HCG, serbest β -HCG MoM, NT MoM değerleri normal dağılıma uymadığı için Mann Whitney-U testi ile karşılaştırıldı. Normal dağılan değerler mean $\pm$ SD, median değerler min-max olarak verildi. İstatistik analizlerinde SPSS version 22 (SPSS Inc., IL, USA) programı kullanıldı. $P<0.05$ anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Sigara içen ve içmeyen grubun ilk trimester tarama testi parametreleri karşılaştırıldığında PAPP-A değerinde ($p=0.023$) anlamlı fark bulundu. Yaş ($p=0.88$), PAPP-A MoM ($p=0.981$), serbest β -HCG ($p=0.668$), serbest β -HCG MoM ($p=0.782$), NT MoM ($p=0.398$) ve CRL ($p=0.260$) değerleri iki grup arasında anlamlı fark bulunmadı.

Sigara kullanan grup ve kontrol grubuna ait yaş ve gebelik süreleri Tablo 1'de, 1. Trimester Tarama Testi parametrelerine ait istatistiksel veriler Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Gebelikte sigara kullanan ve kullanmayan kadınların yaş ve gebelik süreleri
Table 1. Ages and gestational durations of women who smoke and do not smoke during pregnancy

	Sigara içen (n=700)	Sigara içmeyen (n=200)	<i>p</i> değeri
Yaş, yıl	28 (17-39)	26 (17-39)	0.088
Gebelik, gün	86 (77-97)	86 (75-97)	0.282

Tüm değerler median (IQR) verildi. Tüm non-parametrik veriler Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. *P<0.05 değer anlamlı kabul edildi.

Tablo 2. Gebelikte sigara kullanan ve kullanmayan kadınların 1. Trimester Tarama Testi Parametre-lerinin karşılaştırılması

Table 2. Comparison of 1st Trimester Screening Test Parameters of smoking and non-smoking women during pregnancy

	Sigara içen (n=700)	Sigara içmeyen (n=200)	<i>p</i> değeri
PAPP-A, mIU/ml	2.32 (0.23-10)	2.52 (0.46-10)	*0.023
PAPP-A, MoM	0.97 (0.17-4.71)	0.96 (0.29-3.07)	0.981
serbest β-HCG, ng/ml	34.95 (5.93-242)	37.15 (7.7-208)	0.668
serbest β-HCG, MoM	0.90 (0.14-5.74)	0.93 (0.22-6.51)	0.782
NT, MoM	0.80 (0.38-2.16)	0.78 (0.29-1.44)	0.398
CRL, mm	60.26 $\pm$ 8.97	59.35 $\pm$ 9.22	0.210

Tüm değerler median (IQR) veya mean $\pm$ SD olarak verildi. Normal dağılım gösteren CRL testi independent samples *t*-test ile karşılaştırıldı, diğer tüm non-parametrik veriler Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. *P<0.05 değer anlamlı kabul edildi.

TARTIŞMA

Gebelerde sigara kullanımı, gebeliğin çok erken dönemlerinde (6-8 hafta) sitotroblast proliferasyonunu, farklılaşması ve invazyonunu inhibe ederek, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi anjiyogenik faktörlerin üretimini artırarak plasental fonksiyonları bozmaktadır (16). Ayrıca annenin gebelik süresince kullandığı sigara sayısına bağlı olarak, ortalama plasenta ağırlığının düştüğü gösterilmiştir. Sigaraya bağlı patolojik değişiklikler arasında trofoblastik bazal membran kalınlaşması, villöz mezenşimin kolajen içeriğinde artış, vaskülarizasyonda azalma ve villöz arteriyollerde belirgin intimal ödem bulunmaktadır (15).

Türkiye İstatistik Kurumu tarafından (TÜİK) tarafından 2012 yılında yapılan Küresel Yetişkin Tütün Araştırması sonucuna göre Türkiye’de kadınların %13.1 oranında sigara kullandığı görülmüştür. Ayrıca ülkemizde yapılan farklı ulusal çalışmalarda gebelerin sigara içme oranları % 7.3 -16 arasında değişmektedir (17).

PAPP-A düzeylerinin <0.3 MoM olmasının düşük doğum kilosu ve erken doğum için yol gösterici olduğu ortaya konulmuştur. Düşük PAPP-A düzeyleri bozulmuş plasenta implantasyonu ve fonksiyonu için bir gösterge olabilir. Zayıf plasantasyonun erken doğum, düşük gibi gebelik komplikasyonlarında artışa neden olduğu gösterilmiştir (18). Son yıllarda yapılan çalışmalarda gebelik döneminde sigara kullanımının PAPP-A düzeylerini etkilediği gösterilmiş fakat hangi mekanizma ile bu etkiyi oluşturduğu tam olarak açıklanamamıştır (19-21). Çalışmamızda gebelik süresince sigara kullanan ve kullanmayan gebeler arasında ilk trimester tarama testi biyokimya ve ultrason parametrelerinden PAPP-A değerinde (*p*=0.023) anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 2).

IGF’nin intrauterin fetal büyümede önemli bir mediyatör olduğu ortaya konulmuştur. IGF-I ve IGF-II, IGFBP’e bağlanarak aktif olmayan biyolojik kompleks oluştururlar, proteolitik fonksiyonu olan PAPP-A, IGF’lerin serbest kalmasını sağlar, böylece IGF’ler hedef hücrelerin reseptörlerine bağlanarak, hücre

büyümesi de dahil birçok mitojenik olayı stimüle ederler. IGF-II plasental yapısal ve fonksiyonel kapasiteyi arttırarak gebeliğin erken dönemlerinde fetal büyümeyi sağlarken, IGF-I besinleri anneden fetusa yönlendiriyor gibi görünmektedir. Metalloproteinaz etkisi nedeniyle IGF lerin etkinliğini düzenleyen PAPP-A'nın düşük düzeyleri sinsityotrofoblastlarda yetersiz IGF düzeylerine, bu da uteroplasental yetersizliğe, embriyogenezis ve fetal büyümede sorunlara neden olabilmektedir (22).

Sigara yapısındaki toksik bileşenler plasentaya olan kan akımını ve sitotrofoblastlardaki proliferasyon ve diferansiyasyon dengesini değiştirir. Plasental yetmezlik sonucu fetusa aktif transfer ile iletilen besinler ve glukoz aktarımı bozulur, sonuçta fetal büyümede azalma görülür (22). Yukarıda aktardığımız literatür bilgileri ışığında çalışmamızda sigara kullanan gebelerde, sigaranın özellikle ilk trimesterde, yapısındaki birçok toksik bileşen aracılığı ile sitotrofoplast proliferasyonu ve farklılaşmasını bozarak PAPP-A sentezini etkilediğini ve buna bağlı olarak ta maternal serum PAPP-A düzeylerinin düşük çıktığını düşünmekteyiz. Kagan ve arkadaşları prenatal taramada biyokimyasal parametrelerdeki sigara için yapılan düzeltmenin sigara sayısına göre yapılmasını, böylece hastaya özgü riskin kişiselleştirilebileceğini söylemektedir (23). Zhang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sigara kullananlarda ilk trimester tarama testlerinin etkilendiği ve sigaranın etkisi için bir düzeltme yapılmadığı takdirde, özellikle trizomi 18 için yüksek pozitif tarama testi sonucu olabileceğini göstermiştir (24). Bizim çalışmamızda sigara içen ve içmeyen grup arasında maternal PAPP-A düzeylerinde anlamlı fark bulunmasına rağmen, PAPP-A MoM değerlerinde anlamlı fark olmaması, uygulanan Prisca risk hesaplama programı ile sigaraya ait etkinin düzeltilmediğini göstermektedir. Böylece sigara kullanan gebelerin tarama testi sonuçlarının yanlış pozitif çıkmasının önüne geçilmiş olmaktadır.

İlk trimesterde gebelik süresi tahmininde kullanılan ve yaygın kabul gören biyometrik

ölçüm CRL'dir. Çoğu ulusal rehber eğer gebe tarafından bildirilen son adet tarihi ile ultrason verisi arasında 7 günden fazla fark varsa, ultrason verisinin kullanılmasını önermektedir. Bununla birlikte kromozomal olarak problemli fetuslarda genellikle büyüme gecikmekte ve bu gebeliklerde CRL ye bağlı gebelik yaşı tahmini tanıyı geciktirmekte ve uygun obstetrik yaklaşımı bozmaktadır (25). Nanda Prabhu ve arkadaşları yaptıkları çalışmada maternal sigara kullanımı ile CRL arasında ilişki bulamamışlardır (26). NT ise fetal ense kısmında, deri altında sıvı dolu bölümdür. NT trizomi 21, 18, 13 için kullanılan ilk trimester tarama testi parametrelerinden biridir. NT değeri yüksek fetuslar, kromozomal anomaliler, genetik sendrom ve yapısal defektler açısından artmış riske sahiptirler (27). Bizim çalışmamızda da sigara kullanan gebelerin CRL ve NT MoM değerleri kullanmayanlardan farklı bulunmamıştır (sırasıyla $p=0.210$, $p=0.398$).

İlk trimesterde düşük HCG düzeyleri (< 0.4 or 0.5 MoM) doğum kilosunun 5 veya 10 persantilin altında olması ve abortus ile ilişkilendirilmiş ve aşırı düşük HCG sonuçları (< 0.25 MoM) 24 haftadan önce artmış spontan abortus riski ile bağlantılı bulunmuştur (28). Çalışmamızda sigara kullanan grubun serbest β - HCG median değeri sigara kullanan gruba göre düşük çıkmasına rağmen (sırasıyla 34.95 ile 37.15) istatistiksel olarak iki grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p= 0.668$).

Çalışmanın kısıtlılıkları: Çalışmamızda gebelerin kullandığı günlük sigara adedi kayıtlı olmadığı için kullanılan sigara sayısı ile biyokimyasal parametre ve ultrason verilerinin ilişkisi gösterilemedi. Ayrıca sigara kullanımı ile ilgili verilerin gebelerin kişisel beyanına dayalı olduğunu da belirtmeliyiz.

Sonuç olarak çalışmamızda maternal sigara kullanımının serum PAPP-A düzeylerini etkilediği görülmektedir. PAPP-A düzeylerinin kromozomal anomali taramasında kullanılması dışında, sigara kullananlarda düzeyinin etkilendiğini ve gebelerde erken doğum, gebelik kaybı ve düşük doğum ağırlığı gibi

durumlar için artmış riski gösterebileceği literatürde çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Düşük serum PAPP-A düzeyine sahip gebe-

lerin kromozomal açıdan risk olmasa bile klinik açıdan daha yakından takip edilmesi- nin yararlı olabileceği kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Khalil A, Pandya P. Screening for Down syndrom. J Obstet Gynecol India May/June 2006;56(3): 205-211.
2. Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ, Williams J, Pulkkinen A, Canick JA et al. Prenatal screening for Down's syndrome with use of maternal serum markers. NEngl J Med 1992;327:588-93.
3. Merkatz IR, Nitowsky HM, Macri JN, Johnson WE . An association between low maternal serum α -fetoprotein and fetal chromosomal abnormalities . Am J Obstet Gynecol 1984;148:886-94.
4. Cuckle HS, Wald NJ, Lindenbaum RH. . Maternal serum alpha-fetoprotein measurement: a screening test for Down syndrome . Lancet 1984;1:926-9.
5. Russo ML, Blakemore KJ. A historical and practical review of first trimester aneuploidy screening. Semin Fetal Neonatal Med. 2014 June ; 19(3): 183-187.
6. Carlson LM, Vora NL. Prenatal Diagnosis Screening and Diagnostic Tools. Obstet Gynecol Clin North Am. 2017 Jun; 44(2): 245-256.
7. Kagan KO, Sonek J, Wagner P, Hoopman M. Principles of first trimester screening in the age of non invasive prenatal diagnosis: screening for chromosomal abnormalities. Arch Gynecol Obstet (2017) 296:645-651.
8. Spencer K, Macri JN, Aitken DA, Connor JM. Free b-hCG as first-trimester marker for fetal trisomy. Lancet 1992;339:1480
9. Chelchowska M, Gajewska J, Mazur J, Ambroskiewicz J, Maciejewski T M, Leibschang J. Serum pregnancy-associated plasma protein A levels in the first, second and third trimester of pregnancy: relation to newborn anthropometric parameters and maternal tobacco smoking. Arch Med Sci 2016;12(6):1256-1262
10. Gaccioli F, Aye ILMH, Sovio U, Charnock-Jones S, Smith GCS. Screening for fetal growth restriction using fetal biometry combined with maternal biomarkers. Am J Obstet Gynecol. 2018 Feb;218 (2S):725-737.
11. Banerjee P, Fazleabas AT. Extragonadal actions of chorionic gonadotropin. Rev Endocr Metab Disord. 2011;12(4):323-32
12. Shiefa S, Amargandhi M, Bhupendra J, Moulali S, Kristine T. First Trimester Maternal Serum Screening Using Biochemical Markers PAPP-A and Free β -hCG for Down Syndrome, Patau Syndrome and Edward Syndrome. Indian J Clin Biochem 2013 Jan;28(1):3-12.
13. Sabra S, Gratacos E, Gomez-Roig M D. Smoking- Induced Changes in the Maternal Immune, Endocrine, and Metabolic Pathways and Their Impact on Fetal Growth: A Topical Review. Fetal Diagn Ther. 2017;41(4):241-250.
14. Jauniaux E, Suri S, Muttukrishna S. Evaluation of the impact of maternal smoking on ultrasound and endocrinological markers of first trimester placentation. Early Hum Dev 2013; 89: 777-80.
15. Jauniaux E, Burton GJ. Morphological and biological effects of maternal exposure to tobacco smoke on the feto-placental unit. Early Hum Dev 2007; 83: 699-706
16. Zdravkovic T, Genbacev O, McMaster MT, Fisher SJ. The adverse effects of maternal smoking on the human placenta: a review. Placenta 2005 Apr; 26(Suppl. A) : 81-86
17. Kahyaoğlu S, Özel Ş, Engin-Üstün Y, Erdöl C. Gebelik Ve Sigara Bırakma. The Journal of Gynecology - Obstetrics and Neonatology 2018; 15(1): 24-27
18. Barrett SL, Bower C, Hadlow NC. Use of the combined first-trimester screen result and low PAPP-A to predict risk of adverse fetal outcomes. Prenat Diagn 2008; 28(1): 28-35.
19. Chelchowska M, Gajewska J, Ambroszkiewicz J, Laskowska-Klita T, Bulska EJ, Leibschang J, Szymanski M, Barciszewski J. The concentration of the pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) in pregnant women smoking tobacco--preliminary study. Prz Lek 2008;65:470-473.
20. Miron P, Côté YP, Lambert J. Effect of maternal smoking on prenatal screening for Down syndrome and trisomy 18 in the first trimester of pregnancy. Prenat Diagn 2008;28:180-185.
21. Niemimaa M, Heinonen S, Seppälä M, Ryyänen M. The influence of smoking on the pregnancy-associated plasma protein A, free beta human chorionic gonadotrophin and nuchal translucency. BJOG 2003;110:664-667.
22. Chelchowska M, Maciejewski T, Gajewska J, Ambroskiewicz J, Laskowska-Klita T, Leibschang J. The pregnancy-associated plasma protein A and insulin-like growth factor system in response to cigarette smoking. J Matern Fetal Neonatal Med .2012 Nov;25(11):2377-80.
23. Kagan K.O, Frisova V, Nicolaides K.H, Spencer K. Dose dependency between cigarette consumption and reduced maternal serum PAPP-A levels at 11-13+6 weeks of gestation. Prenat Diagn. 2007 Sep;27(9):849-53.

24. Zhang J, Lambert-Messerlian G, Palomaki G.E, Canick J.A. Impact of smoking on maternal serum markers and prenatal screening in the first and second trimesters. *Prenat Diagn* 2011; 31: 583-588
25. Sagi-Dain L, Peleg A, Sagi Shlomi. First-Trimester Crown-Rump Length and Risk of Chromosomal Aberrations-A Systematic Review and Meta-analysis. *Obstet Gynecol Surv* . 2017 Oct;72(10):603-609.
26. Prabhu N, Smith N, Craig L.C, Seaton A, Helms P. J, Devereux G, Turner S. W. First trimester maternal tobacco smoking habits and fetal growth. *Thorax* . 2010 Mar;65(3):235-40.
27. Sezik M, Özkaya O, Boylu M, Kaya H, Normal karyotipte nukal saydımlık ve ense derisi kalınlığının anne yaşı ve gestasyonel yaş ile değişimi. *TJOD*. 2005; 2(4): 290-294.
28. Gaglon A, Wilson R.D. Obstetrical complications associated with abnormal maternal serum markers analytes. *J Obstet Gynaecol Can.* 2008 Oct;30(10):918-932.