

ارزیابی سطح پلاسمایی ویتامین C در پره اکلامپسی و حاملگی طبیعی

دکتر محمد حسین دهقان^۱، دکتر بهاره رجائی فر^۲، دکتر فرناز اهدایی وند^۳، فیروز امانی^۴

چکیده

زمینه و هدف: پره اکلامپسی یکی از علل عمده مرگ و میر در مادران و نوزادان است. علی رغم تحقیقات موثری که از سالها پیش در جهت اتیولوژی این عارضه بخصوص در راستای حاملگی انسانی انجام شده است، بسیاری از نکات در مورد این بیماری هنوز ناشناخته است. فشار اکسید کنندگی (Oxidative Stress) در پاتوفیزیولوژی پره اکلامپسی نقش عمده دارد. مواد غذایی ضروری مثل ویتامین C قادر به از بین بردن رادیکال های آزادی هستند که موجب تخریب سلولی می شوند. مطالعه حاضر جهت بررسی سطح ویتامین C در بیماران با پره اکلامپسی و زنان باردار دارای فشار خون طبیعی طراحی شد.

روش کار: مطالعه از نوع مورد - شاهدهی بود. ویتامین C به عنوان یک آنتی اکسیدان در ۴۰ بیمار مبتلا به پره اکلامپسی و ۸۰ خانم حامله با فشار خون طبیعی مراجعه کننده به بیمارستان علوی شهر اردبیل اندازه گیری و مقایسه شد. اندازه گیری به صورت اسپکتروفتومتری انجام شد. اطلاعات جمع آوری شده با استفاده از روش های آمار توصیفی و تحلیلی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته ها: میانگین سطح پلاسمایی ویتامین C در افراد مبتلا به پره اکلامپسی (0.147 ± 0.030 mg/dl) نسبت به میانگین سطح پلاسمایی ویتامین C در مقایسه با گروه کنترل که افراد حامله با فشار خون طبیعی (0.347 ± 0.119 mg/dl) بودند کاهش معنی داری را نشان می داد.

نتیجه گیری: تلاش در جهت پیشگیری از پره اکلامپسی توجیه و تفکر درستی است و از آنجایی که تاکنون هیچگونه آزمون غربالگری قابل اطمینان در خصوص این عارضه پیشنهاد نشده است، ارزیابی سطح پلاسمایی ویتامین C در مورد خانم های مستعد به پره اکلامپسی پیشنهاد می شود.

واژه های کلیدی: پره اکلامپسی، حاملگی طبیعی، سطح پلاسمایی ویتامین C

۱- مؤلف مسئول: استادیار بیوشیمی دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

۲- پزشک عمومی

۳- استادیار زنان و زایمان دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

۴- مربی آمار زیستی دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

مقدمه

پره اکلامپسی یکی از علل مهم مرگ و میر مادر و جنین می باشد و سالیانه منجر به مرگ ۵۰۰۰۰ مادر در سراسر دنیا می شود و حدود ۱۰-۳ درصد از کل بارداری ها را عارضه دار می کند. این عارضه دومین علت مرگ و میر مادران بعد از خونریزی واژینال در سراسر دنیا است و بیش از ۴۰٪ زایمان های زودرس بدون علت را تشکیل می دهد [۲۱]. این بیماری جزو اولویت های سازمان بهداشت جهانی است ولی با این حال هنوز پاتوفیزیولوژی آن کاملاً شناخته نشده است. پره اکلامپسی بیماری است که تا بحال در حیوانات دیده نشده و شاید به همین دلیل است که تاکنون نتوانسته اند علت مشخصی را بعنوان عامل بیماری معرفی نموده و هنوز روش پیشگیری مناسبی برای آن توصیه نشده است [۲].

تخریب عروق آندوتلیال نقش مهمی در پاتوفیزیولوژی پره اکلامپسی ایفا می کند [۵-۳]. مطالعات متعددی نشان می دهد که رادیکال های آزاد در پره اکسیده کردن لیپیدها مؤثر بوده و باعث تخریب سلول های آندوتلیال می شود [۴، ۷و ۶]. تاکنون هیچ مطالعه ای در جهت اندازه گیری سطح آنتی اکسیدان ها در سرم بیماران مبتلا به پره اکلامپسی در ایران صورت نگرفته است. در سطح جهان نیز چندین مطالعه با تعداد نمونه کم انجام شده که نتایج ضد و

نقیضی ارایه نموده اند. در مطالعاتی که در آن از آنتی اکسیدان ها به عنوان یک عامل پیشگیری از پره اکلامپسی استفاده کرده اند کاهش تا حد ۵۰٪ نیز گزارش شده است، البته کلیه مطالعات جهت ارایه نتایج قابل استناد تعداد نمونه های بیشتری را توصیه می کنند [۳]. مطالعه ای که در سال ۱۹۹۶ انجام شده نشان داده اند که افزایش رادیکال های آزاد همراه با افزایش مصرف آنتی اکسیدان هاست که در نتیجه کاهش غلظت آنها را در برخواهد داشت. علاوه بر مکانیسم آنزیمی جهت حذف و مقابله با رادیکال های آزاد، مواد غذایی متعددی وجود دارند که قادر به حذف رادیکال های آزاد هستند که یکی از مهمترین آنها ویتامین C می باشد که خط دفاعی قوی در برابر رادیکال های آزاد است [۱].

نقش آنتی اکسیدان ها در این بیماران مقابله با ایجاد اختلال توسط رادیکال های آزاد یعنی محافظت غشاهای سلولی در برابر پره اکسیده شدن لیپیدهای آن است [۳]. سطح ویتامین C کمتر از ۰/۲ میلی گرم در دسی لیتر فرد را در معرض خطر بالاتری قرار می دهد [۴]. در سال ۱۹۸۹ علاوه بر مکانیسم دفاعی آنزیمی برای حذف رادیکال های آزاد، مواد غذایی اساسی مثل ویتامین C به عنوان خط دفاعی قوی در حذف رادیکال های آزاد برای جلوگیری از تخریب سلولی معرفی و تخریب آندوتلیوم عروق بعنوان یک عامل مهم در

پاتوفیزیولوژی پره اکلامپسی مورد تشخیص قرار گرفت [۴]. بطوریکه مطالعات زیادی در این زمینه انجام و این امر را که مفهوم وجود پره اکلامپسی با پره اکسیده شدن لیپیدهاست مشخص و این نتیجه حاصل شد که افزایش رادیکال های آزاد زمینه را جهت فرایند پره اکلامپسی مهیا می کند. یک مطالعه مورد-شاهدی نشان داد که تجویز رژیم مکمل ویتامین C در جلوگیری از پره اکلامپسی نقش مهمی دارد [۹ و ۸]. دانشمندان همچنین مشاهده کردند که سطح ویتامین C همراه با ویتامین A و E در پره اکلامپسی کاهش می یابد [۱] و [۴]. محققین ضمن پی بردن به کاهش آنتی اکسیدان های مثل ویتامین C در پره اکلامپسی با مکمل های آنتی اکسیدان سعی در درمان آن نمودند [۳]. در سال ۱۹۹۶ دانشمندان پی بردند که درمان با ویتامین C بهبود اثر اکسید نیتریک بر روی آندوتلیوم را در بیماران عروق کرونری در بر خواهد داشت [۷ و ۱۰]. در سال ۱۹۹۸ در ترکیه پوران^۱ و همکاران با تزریق ویتامین های آنتی اکسیدان به جفت افراد پره اکلامپتیک و افراد با حاملگی طبیعی با کاهش سطح لیپید پراکسیداز و کاهش آنتی اکسیدان در افراد پره اکلامپتیک مواجه شدند و با اندازه گیری سطح ویتامین های E و C در حاملگی طبیعی (۳۳ نفر)، پره اکلامپسی خفیف (۸ نفر) و پره اکلامپسی شدید (۱۶ نفر) دریافتند که سطح این ویتامین های آنتی اکسیدان و عملکرد مفید آنها در افراد مبتلا به پره اکلامپسی کاهش یافته است [۱۱]. ساگول^۲ و همکاران با مطالعه بر روی ۲۲ پره اکلامپسی و ۲۱ حامله طبیعی چنین نتیجه گرفتند که پراکسیداسیون لیپید مهم ترین عامل در پاتوژنز پره اکلامپسی است و سطح ویتامین های E و C به طور چشم گیری در گروه پره اکلامپتیک کاهش یافته به طوریکه با مصرف مکمل های خوراکی این دو ویتامین از تغییرات سلولی بوسیله رادیکال آزاد جلوگیری گردید [۱۲]. فرضیه استرس اکسیداتیو در اتیولوژی پره اکلامپسی باعث مورد توجه قرار گرفتن ویتامین های E

C به عنوان مکمل شده است [۱۳]. کولین^۳ و همکاران با تجویز روزانه ۱۰۰۰ میلی گرم ویتامین C در زنان باردار نشان دادند ویتامین C و سایر آنتی اکسیدان ها اثر پیشگیری کنندگی در پره اکلامپسی دارند [۱۴]. چپل^۴ و همکاران برای بررسی فرضیه درمان زنان حامله با آنتی اکسیدان ها روی ۲۸۳ زن در معرض خطر در هفته های ۲۲-۱۸ در دو گروه مجزا با استفاده از آنتی اکسیدان و دارونما مطالعه خود را انجام دادند و دریافتند که درمان با آنتی اکسیدان به طور قابل توجهی فعالیت سلول های آندوتلیال را کاهش می دهند، همچنین در زنان مبتلای دریافت کننده ویتامین های E و C در مقایسه با گروه شاهد کاهش قابل توجهی در میزان بروز پره اکلامپسی یعنی ۱۱٪ در برابر ۱۷٪ رخ داد [۱۵ و ۹].

بررسی سطح پلاسمایی ویتامین C در جامعه مورد مطالعه نشانه مناسبی برای برخی بیماری ها خواهد بود. بنابراین مطالعه حاضر با این هدف طراحی گردید که سطح پلاسمایی ویتامین C در بیماران پره اکلامپسی با گروه کنترل که دارای فشار خون طبیعی در دوران حاملگی هستند اندازه گیری و مقایسه شود.

مواد و روش ها

این مطالعه به صورت مورد - شاهدی بود. گروه مورد بیماران با تشخیص پره اکلامپسی (۴۰ نفر) و گروه کنترل شامل زنان حامله با فشار خون طبیعی (۸۰ نفر) از بین مراجعه کنندگان به بیمارستان علوی اردبیل در نیمه دوم سال ۱۳۸۲ انتخاب شدند.

از کلیه بیمارانی که واجد شرایط ورود به مطالعه بودند و در محدوده سنی یکسانی قرار داشتند، نمونه گیری گردید. شرایط ورود به مطالعه در گروه مورد شامل تشخیص قطعی پره اکلامپسی، طبیعی بودن کراتینین سرم وعدم وجود سابقه فشار خون مزمن بود.

شرایط ورود به مطالعه در گروه شاهد شامل طبیعی بودن حاملگی، عدم وجود سابقه فشار خون در

^۳ Collin

^۴ Chappell

^۱ Poranon

^۲ Sagol

آزمون تی برای مقایسه میانگین ها در دو گروه مشخص گردید که بین میانگین سطح پلاسمایی ویتامین C در پره اکلامپسی خفیف و شدید ارتباط معنی دار آماری وجود داشت ($p=0/012$)، به عبارتی هر چه پره اکلامپسی شدید تر، سطح پلاسمایی ویتامین C پایین تر بود. لازم به ذکر است که از ۱۲۰ مورد سطح ویتامین C اندازه گیری شده ۲۵ نفر (۲۰/۸٪) که دارای سطح پلاسمایی کمتر از حد طبیعی بودند، در سطح اقتصادی ضعیف قرار داشتند و ۹۵ نفر (۷۹/۲٪) در سطح سرمی نرمال در سطح اقتصادی متوسط و بالا بودند. در این مطالعه جهت سنجش ارتباط سن با سطح پلاسمایی ویتامین C میزان همبستگی حدود (-۰/۳۵) برآورد شد که بیانگر ارتباط معکوس بین سطح ویتامین C و سن مادران می باشد. در ضمن در محدوده سطح پلاسمایی ویتامین C کمتر از 2mg/dl بیشترین فراوانی ۱۵ نفر (۳۵/۷٪) متعلق به نولی پارهای مبتلا به پره اکلامپسی بود (جدول ۱).

جدول ۱. توزیع فراوانی سطح پلاسمایی ویتامین C به تفکیک در دو گروه مورد و شاهد

گروه مطالعه ویتامین C	مورد		شاهد		جمع
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	
$<0/2$	۳۹	۹۷/۵	۳	۳/۷۵	۴۲
$\geq 0/2$	۱	۲/۵	۷۷	۹۶/۲۵	۷۸
جمع کل	۴۰	۱۰۰	۸۰	۱۰۰	۱۲۰

$p=0/0001$

در مورد ارزیابی عوامل خطر بروز پره اکلامپسی از جمله عوامل خطر مطرح شده پاریتی بود که در گروه مبتلا به پره اکلامپسی ۳۷/۵٪ پاریتی صفر داشتند.

بحث

طبق نتایج بدست آمده در این مطالعه ۹۷/۵٪ از افراد مبتلا به پره اکلامپسی سطح سرمی ویتامین C کمتر از حد نرمال و ۹۶/۳٪ از زنان با حاملگی طبیعی سطح سرمی ویتامین C طبیعی داشتند، بنابراین مشخص گردید که سطح سرمی ویتامین C در افراد مبتلا به پره اکلامپسی کاهش معنی داری نسبت به زنان

خود و خانواده، عدم وجود سابقه بیماری مزمن، سن حاملگی 38 ± 1 هفته (بعلت جلوگیری از پدیده پیر شدگی جفت)، فشار خون بیشینه کمتر از ۱۲۰ و کمینه کمتر از ۷۰ و عدم وجود افزایش گذرای فشار خون طی دوران بارداری بوده است. روش گردآوری اطلاعات به صورت پرسشنامه حاوی مشخصات فردی و دموگرافیک مادران و بررسی نتایج آزمایشگاهی بود.

بعد از تشخیص پره اکلامپسی و حاملگی طبیعی اطلاعات مورد لزوم با مصاحبه مستقیم با بیمار و انجام معاینه بالینی در پرسشنامه درج می گردید. بعد از تکمیل فرم از بیمار بین ۱۰-۵ میلی لیتر خونگیری شد و داخل لوله هپارینه سریعاً به آزمایشگاه منتقل شده و توسط سانتریفوژ یخچال دار حدود ۱۵ دقیقه سانتریفوژ و سرم جدا گردید و در آزمایشگاه طبق روش آی کیا [۶] سطح پلاسمایی ویتامین C اندازه گیری گردید. پس از جمع آوری اطلاعات از روش های آمار توصیفی به صورت جداول فراوانی و فاصله اطمینان و آمار تحلیلی در قالب استفاده از آزمون های آماری فیشر و تی برای مقایسه سطح ویتامین C در دو گروه استفاده گردید. تجزیه و تحلیل اطلاعات در نرم افزار آماری SPSS صورت گرفت.

یافته ها

سطح ویتامین C در ۱۲۰ بیمار اندازه گیری شد. از تعداد ۴۰ مورد پره اکلامپسی ۳۹ نفر (۹۷/۵٪) در محدوده سطح پلاسمایی ویتامین C کمتر از mg/dl و ۰/۲ و از ۸۰ مورد حامله طبیعی ۷۷ نفر (۹۶/۳٪) در محدوده سطح پلاسمایی ویتامین C بیشتر یا مساوی $0/2\text{ mg/dl}$ قرار داشتند.

میانگین سطح پلاسمایی ویتامین C در گروه مورد ($0/30 \pm 0/147\text{ mg/dl}$) و میانگین سطح پلاسمایی ویتامین C در گروه کنترل ($0/119 \pm 0/347\text{ mg/dl}$) بود. از ۴۰ مورد پره اکلامپسی ۱۲ نفر به نوع شدید مبتلا بودند که میانگین سطح ویتامین C در نوع خفیف ($0/27\text{mg/dl} \pm 0/155$) و در نوع شدید ($0/28\text{mg/dl} \pm 0/129$) بود که با استفاده از

در این بررسی با توجه به میانگین سطح پلاسمایی ویتامین C در گروه پره اکلامپسی خفیف (mg/dl) 0.27 ± 0.155 و گروه پره اکلامپسی شدید (mg/dl) 0.28 ± 0.129 و ارتباط معنی دار بین این دو مشخص گردید که در این مطالعه افراد مورد بررسی که پره اکلامپسی شدیدی داشته اند سطح پلاسمایی ویتامین C پایینتری نسبت به نوع خفیف داشتند.

در مطالعه حاضر بیشترین فراوانی پره اکلامپسی در محدوده سرمی کمتر از حد طبیعی ویتامین C حدود ۳۵/۷٪ متعلق به نولی پارها بود که نشان می دهد، افراد در پاریته پایین سطح سرمی ویتامین C پایینی داشته که خود این امر می تواند فرد را مستعد بروز پره اکلامپسی نماید.

در مورد ارزیابی عوامل خطر بروز پره اکلامپسی از جمله عوامل خطر مطرح شده پاریتی بود که در گروه مبتلا به پره اکلامپسی ۳۷/۵٪ پاریتی صفر داشتند که نتیجه بدست آمده نشان می دهد که پاریتی صفر یک عامل خطر مهم در بروز پره اکلامپسی می باشد که با مطالعه اسکنازی و همکاران که نولی پارته را به عنوان یکی از عوامل خطر مهم بروز پره اکلامپسی معرفی کرده اند مطابقت دارد [۱۹].

در بررسی حاضر سطح درآمد افراد به عنوان یک عامل خطر بررسی شد که ۵۵٪ از افراد مبتلا به پره اکلامپسی سطح اقتصادی ضعیف داشتند درحالیکه ۳۷/۵٪ از زنان با حاملگی طبیعی در سطح اقتصادی ضعیف قرار داشتند ($p < 0.05$) که نشان می دهد سطح درآمد و متعاقباً تغذیه یک عامل خطر مهم در بروز پره اکلامپسی است که حتی در تعداد اندک مورد مطالعه حاضر تاثیر گذار بوده است، همچنین بیشترین فراوانی گروه مبتلا به پره اکلامپسی در هفته های ۴۰-۳۸ (۳۲/۵٪) قرار داشتند که این نشان می دهد که بایستی مراقبت های بهداشتی و درمانی در مورد زنان پر خطر در حوالی نزدیک به ترم به صورت گسترده ای صورت گیرد.

با حاملگی طبیعی داشت که با مطالعه کاراب^۱ و همکاران مطابقت دارد [۴].

از طرفی با توجه به میانگین سطح سرمی ویتامین C در پره اکلامپسی شدید (mg/dl) 0.28 ± 0.129 و در پره اکلامپسی خفیف (mg/dl) 0.27 ± 0.155 و ارتباط معنی دار بین این دو میانگین می توان نتیجه گرفت هر چه پره اکلامپسی شدیدتر باشد سطح ویتامین C سرم پایین تر خواهد بود.

در این بررسی مشخص گردید که ۷۹/۲٪ افراد مورد مطالعه که سطح سرمی ویتامین C طبیعی داشتند دارای سطح اقتصادی متوسط و بالا بودند که این امر نشان دهنده آن است که کاهش سطح ویتامین C با کاهش درآمد که نمودی از وضعیت تغذیه ای افراد می باشد مطابقت دارد، که این یافته با نتیجه مطالعه لیندا مینی بر مؤثر بودن تغذیه بر سطح سرمی ویتامین C هم خوانی دارد [۱۶].

در این مطالعه با توجه به میانگین سطح سرمی ویتامین C در افراد مبتلا به پره اکلامپسی (mg/dl) 0.30 ± 0.147 و میانگین سطح سرمی ویتامین C در افراد با حاملگی طبیعی (mg/dl) 0.119 ± 0.347 نتیجه گرفته می شود که سطح سرمی ویتامین C در افراد پره اکلامپتیک در محدوده پایین تری نسبت به افراد با حاملگی طبیعی قرار دارد که با سایر مطالعات مشابه مینی بر کاهش سطح ویتامین C سرمی در پره اکلامپسی مطابقت دارد [۱۲، ۱۱ و ۱۷] ولی با مطالعات اوزان و همکاران مینی بر نرمال بودن سطح ویتامین C در پره اکلامپسی متناقض است [۱۸].

با توجه به میزان درجه همبستگی بین سن و سطح ویتامین C (-0.354) مشخص گردید که بین سن و سطح ویتامین C رابطه معکوس وجود دارد به طوریکه هر چه سن بالاتر باشد سطح ویتامین C پایین تر خواهد بود، که نتیجه بدست آمده با مطالعات لیندا^۲ مطابقت دارد [۱۶] و از طرف دیگر این امر خطر ابتلای بیشتر به پره اکلامپسی در سنین بالا را تایید می کند [۹].

تشکر و قدردانی

^۱ Kharab

^۲ Linda

London: Lippincott Williams and wilkins. 2001: 1033.

11- Poranen AK, Ekblad U, Uotila P, Ahotupa M. The effect of vitamin C and E on placental lipid peroxidation and antioxidative enzymes in perfused placenta. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1998 Apr; 77(4): 372-6.

12- Sagol S, Ozkinay E, Ozsener S. Impaired antioxidant activity in woman with preeclampsia. *Int J Gynaecol Obstet.* 1999 Feb; 64(2): 121-7.

13- Wallenburg HC. Prevention of preeclampsia: Status and perspectives. *Eur J Obstetrics Gynecol Reproduct Biol.* 2001 Jan; 94(1): 13-22.

14- Zhang C, Williams MA, King IB, Dashow EE, Sorensen TK, Frederick IO, et al. Vitamin C and the risk of preeclampsia-results from dietary questionnaire and plasma assay. *Epidemiology.* 2002 Jul; 13(4): 409-16.

15- Chappell LC, Seed PT, Brieley AL, Kelly FJ. Effect of antioxidants on the occurrence of antidiants on the occurrence of preeclampsia in woman at increased risk: a randomized trial. *Lancet.* 1999 Sep; 354(9181): 810-6.

16- Vasdev S, Longerich L, Singal L. Nutrition and hypertension. *Nutr Res.* 2002; 22: 111-23.

17- Akyol D, Mungan T, Gorkemli H, Nuhoglu G. Maternal levels of vitamin E in normal and preeclamptic pregnancy. *Arch Gynecol Obstet.* 2000 Apr; 263(4): 151-5.

18- Ozan H, Esmer A, Kolsal N, Copur OU, Ediz B. Plasma ascorbic acid and erythrocyte fragility in preeclampsia and eclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1996 Dec; 70(1): 97-100.

19- Eskenazi B, Fenster L, Sideny S. A multivariate analysis of Risk factors for preeclampsia. *JAMA.* 1991 Jul; 2(4): 330.

این طرح با هزینه دانشگاه علوم پزشکی اردبیل به انجام رسیده است، بدینوسیله از زحمات معاونت محترم پژوهشی دانشگاه و از همکاری پرسنل پر تلاش بیمارستان علوی تشکر و قدردانی می شود.

منابع

1- Lewis G, Drife J, Botting B. Why mother die, report on confidential enquiries in to maternal deaths in the united kingdom 1994-96. Department of health, weish officem Scottish office. Department of health and department of health and social services. London: Stationery office, 1983.

2- Necip I, Navin I, Mehmet S. The changes of trace elements, malondialdehyde levels and superoxide dismutase activities in pregnancy with or without preeclampsia. *Clinical Biochemistry.* 2002; 35: 393-7.

3- Sibai BM. Prevention of preeclampsia: a big disappointment. *Am J Obstet.* 1998 Nov; 179(5): 1275-8.

4- Kharab S. Vitamin E and C in preeclampsia. *Eur J obstet Gynecol Reprud Biol;* 2000 Nov; 93(1): 37-9.

5- Chapell LC, Seed PT, Briley AL, Kally FJ, Lee R, Hunt BJ, et al. Effect of anti-oxidants on the occurrence of preeclampsia in women at increased risk: a randomized trial. *Lancet.* 1999; 354(9181): 810-6.

6- Kyaw AA. Simple colorimetric method for ascorbic acid determination in blood plasma. *Clin Chim Acta.* 1978; 86: 153-7.

7- Mikhail MS, Anyaebunam A, Garfinkel D. Preeclampsia and antioxidant nutrients: decreased plasma levels of reduced ascorbic acid, alpha-tolcopheral, and beta-caroten in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 1994 Jul; 171(1): 150-7.

8- Danforth DN, Gibbs RS, Karlan BY, Heney AF. *Danforth's Obstetrics and Gynecology*, 9th ed. London: Lippincott Williams and Wilkins, 2003: 639-51.

۹- ویلیامز جی. بارداری وزایمان ویلیامز، ترجمه بهرام قاضی جهانی، جلد دوم، چاپ اول، تهران: انتشارات گلبن.

سال ۱۳۸۰، صفحات ۵۷۳ تا ۶۰۴.

10- Maurice E, Shils SC, James A, Olson PD. *Modern nutrition in health and disease*, 9th ed.