

Žmogaus chorioninio gonadotropino reikšmė klinikinėje praktikoje

The significance of human chorionic gonadotropin in clinical practice

Oldas Tamašauskas¹, Ieva Šiaudinytė²

¹ *Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Akušerijos ir ginekologijos klinika, Santariškių g. 2, LT-08661 Vilnius*

² *Vilniaus universiteto Medicinos fakultetas, M. K. Čiurlionio g. 21, LT-03101 Vilnius*

El. paštas: Oldas.Tamasauskas@santa.lt

¹ *Vilnius University Faculty of Medicine, M. K. Čiurlionio Str. 21, LT-03101 Vilnius, Lithuania*

² *Vilnius University, Faculty of Medicine, Clinics of Obstetrics and Gynecology, Santariskiu Str. 2, LT-08661*

Vilnius, Lithuania

E-mail: Oldas.Tamasauskas@santa.lt

Žmogaus chorioninio gonadotropino (hCG) koncentracijos nustatymas dažniausiai naudojamas ankstyvo nėštumo diagnostikai, trukmei nustatyti bei nėštumui stebėti. Be to, HCG yra vertingas diagnozuojant savaiminį persileidimą, nesivystantį ar ektopinį nėštumą. Šis hormonas leidžia prenataliai įvertinti vaisiaus apsigimimų riziką. Taip pat hCG labai svarbus trofoblastinių ligų ir tam tikrų lokalizacijų vėžio diagnostikai, gydymo efektyvumo vertinimui. Retai, tačiau galimi ir klaidingai teigiami tyrimų rezultatai dėl analitinių klaidų, tyrimams naudojamų įrenginių, prietaisų gedimų ar tam tikrų kraujyje esančių medžiagų (pvz.: heterofiliniai antikūnai, autoantikūnai, reumatoidinis faktorius, taip pat bilirubinas, hemoglobinas ar lipidai gali lemti klaidingus, netikslus tyrimo rezultatus), todėl svarbu įvertinti ne vieno tyrimo rezultatus, o bendrą klinikinį vaizdą, visą surinktą informaciją ir apsvarstyti visas klinikinės diagnostikos galimybes.

Reikšminiai žodžiai: žmogaus chorioninis gonadotropinas, hCG, ektopinis nėštumas, klaidingai teigiamas rezultatas, *Immulite2000*, nėštumo diagnostika.

Measuring the blood concentration of human chorionic gonadotropin (hCG) is a routine laboratory test to diagnose early pregnancy, assess its duration and observe its course. In addition, hCG is a valuable tool in the diagnostics of miscarriage, nondeveloping foetus or ectopic pregnancy. The measurements of this hormone allow to suspect the possible risk of foetal abnormalities. hCG is also used to diagnose and follow the course of particular types of cancer and diseases of trophoblastic origin. Rarely, though, it is possible that false positive results ensue due to failures of analysis, malfunction of laboratory equipment or particular substances circulating in the blood, i.e. heterophilic antibodies, autoantibodies, the rheumatoid factor, bilirubin, haemoglobin or lipids could possibly lead to false test results. Taking into consideration all the previously mentioned issues, it is always important to assess the whole clinical status of the patient, to gather all the possible information and to consider various diagnostic approaches and not to rely too heavily on one laboratory test.

Key words: human chorionic gonadotropin, ectopic pregnancy, hCG, false-positive result, *Immulite2000*, pregnancy diagnostics

Įvadas

Žmogaus chorioninis gonadotropinas yra hormonas, kurį sintetina besivystančio blastocito trofoblastinės ląstelės, o vėliau, po 12–14 nėštumo savaitės, – placenta (sincitiotrofoblastinės ląstelės). Tai glikoproteinas, sudarytas iš dviejų α ir β grandinių, susijungusių nekovalentiniu ryšiu. α grandinė yra struktūriškai tapati homologių hipofizės sintetinamų hormonų, liuteinizuojančio hormono (LH), folikulus stimuliuojančio hormono (FSH) ir skydliaukę stimuliuojančio hormono (TTH) α grandinei. Tačiau visų šių hormonų β grandinė yra unikali ir suteikia individualių savybių hormonui [1]. HCG pusinės eliminacijos periodas ($T_{1/2}$) yra 24 val., o laisvos β -hCG grandinės $T_{1/2}$ yra 12–36 val. [2]

Ankstyvuojant nėštumo laikotarpiu šis hormonas užtikrina geltonkūnio funkciją, šitaip palaikydamas tinkamą progesterono ir estrogenų kiekį, būtina nėštumo metu gimdos gleivinės proliferacijai. Sveikų nėščių moterų serume galima rasti įvairių formų hCG: intaktinį (92–98 %), tik α grandinę (< 7 %), tik β grandinę (< 3 %) ir iš dalies suskaidytą (pvz.: įkirptasis hCG ar β grandinės fragmentai). Nėštumo pradžioje moterų šlapime daugiausia yra β grandinės fragmentų (~50 %), mažiau intaktinio (~35 %) ir įkirptojo (~10 %) hCG. Nėštumo metu hCG koncentracija kraujyje didėja labai greitai – per pirmąsias šešias savaites ji padvigubėja kas 1–3 dienas, praėjus mėnesiui po apvaisinimo pasiekia ~2000 IU/l ir maždaug 12–14-ą nėštumo savaitę pasiekia maksimumą (100 000 IU/l). Vėliau lėtai mažėja iki pat nėštumo pabaigos. Kelios savaitės po gimdymo hCG kraujyje pasiekia iki nėštumo būdingą lygį (< 5 IU/l) [3, 4].

HCG tyrimas naudojamas ankstyvam nėštumui (6–8 dienos po pastojimo), nėštumo trukmei nustatyti bei nėštumui stebėti. HCG koncentraciją rekomenduojama tirti moterims, kurioms įtariamas ektopinis nėštumas, gresiantis persileidimas ar pūslinė išvisa, taip pat rizikos grupių moterims, kurios praeityje yra turėjusios ektopinį nėštumą, sirgusios kiaušintakių ar dubens organų uždegimine liga, turi įgimtų kiaušintakių vystymosi sutrikimų ar susiformavusių pooperacinių formos ar struktūros pažeidimų.

Nustatyta, kad išmatuoti laisvo β -hCG kiekį motinos serume gali būti labai naudinga pirmą ir antrą nėštumo trečdalį tikrinant dėl chromosominių anoma-

lijų (prenatalinė aneuploidijų patikra). HCG kartu su α -fetoproteinu (AFP) ir laisvu estrioliu (uE3) matuojamas kraujyje antrą nėštumo trečdalį siekiant įvertinti vaisiaus apsigimimų riziką (PRISCA-II tyrimas).

Negimdinio nėštumo, gresiančio persileidimo atveju hCG koncentracija kraujo serume auga lėčiau. Įvykus savaiminiam persileidimui hCG greitai mažėja.

Immulate2000 sistemų analizatoriai yra naudojami diagnostiniais *in vitro* tikslais kiekybiniam hCG matavimui žmogaus kraujo serume, taip pat kiekybiniam laisvos β -hCG grandinės matavimui serume ir tik kokybiniam matavimui šlapime. *Immulate2000* yra kietos fazės chemiliuminescencinis imunometrinis tyrimas. Kiekybinio tyrimo analitinis jautrumas yra 0,4 IU/l hCG ir 1 ng/ml (1 IU/l) laisvoms β -hCG grandinėms. Kokybinė tyrimo procedūra leidžia nustatyti, ar šlapimo mėginyje hCG koncentracija yra didesnė ar mažesnė už 30 IU/l tyrimo tikslumo ribose. Taigi mėginio rezultatas ≥ 30 IU/l yra teigiamas, o < 30 IU/l – neigiamas. Tyrimas labai specifiškas hCG ir pasižymi mažu kryžminiu reaktyvumu kitiems glikoproteininiais hormonams, esantiems pacientų mėginiuose.

Klinikinis atvejis

Pacientė, 41 metų moteris, atvyko į Vilniaus universitetinės ligoninės Santariškių klinikas (VUL SK) dėl skausmų pilvo apačioje ir kraujingų išskyrų iš genitalijų. Būklė po dirbtinio apvaisinimo IVF (*in vitro fertilisation*). Skaičiuojant gestacinį laiką pagal embrionų įsodinimo ir paskutinių mėnesinių pirmosios dienos laiką, nustatyta 7-a nėštumo savaitė. Anamnezė: penktas nėštumas, du gimdymai – Cezario pjūvio operacijos, du kartus operuota dėl negimdinio nėštumo. Pacientės teigimu, pašalintas kairysis kiaušintakis dėl negimdinio nėštumo ir du kartus operuota dėl sąauginio žarnų nepraeinamumo. Ambulatoriškai atliekant transvaginalinę echoskopiją (TVE), nėštumo gimdos ertmėje nematyta, tačiau atlikus biocheminį kraujo serumo tyrimą hCG buvo 8286 IU/l. Apžiūros duomenys: išoriniai lyties organai be pakitimų, makštyje kraujingos išskyros; gimdos kaklelis epitelizavęsis, kietas; gimda padidėjusi, čiuopiant skausmingas dešinysis gimdos kampas. TVE: gimdos gleivinės storis 9 mm, gemalinės pūslelės (GS) gimdos ertmėje nematyti; šalia dešiniojo gimdos kampo matomas 12 mm mišraus echogeniškumo da-

rinys su kraujotaka. Esant skausminiam sindromui ir įtariant ektopinį nėštumą, nutarta atlikti laparoskopinę operaciją ir pašalinti nėštumą. Prieš operaciją pacientei buvo atliktas bendrasis kraujo tyrimas, leukograma, koagulograma – pakitimų nenustatyta, visi rodikliai normos ribose. Laparoskopinės operacijos metu rasta: žarnynas, kepenys, taukinė, pilvaplėvė – be matomos patologijos; kairioji ir dešinioji kiaušidės be pakitimų; kairysis kiaušintakis viduriniame trečdalyje perspaustas (po buvusios operacijos); dešinysis kiaušintakis pašalintas; šiek tiek padidėjusi gimda, sustorėjęs dešinysis jos kampas. Naudojant bipoliarą ir monopoliarą įpjautas dešinysis gimdos kampas, pašalintas tamsaus kraujo prisipildęs 1 cm skersmens darinys, kuris išsiųstas histologiniam morfologiniam ištyrimui; gimdos raumuo susiūtas. Gautas atsakymas iš Valstybinio patologijos centro (VPC), galutinė patologijos diagnozė: gausios vaskuliarizacijos lygiųjų raumenų fragmentas, nėštumo požymių nėra. Kitą dieną po operacijos hCG koncentracija kraujo serume buvo 8 976 U/l. Trys dienos po operacijos hCG išaugo iki 10 046 U/l, o aštuntą dieną po operacijos – 23 704 U/l. Moteris skundų neturėjo, skausmų nejautė, todėl buvo nuspręsta atlikti gimdos ertmės abraziją (kiuretažą). Gauta medžiaga išsiųsta histologiniam ištyrimui. VPC atsakyme galutinė patologijos diagnozė: hipergestagenemijos nulemti gimdos gleivinės pokyčiai (decidualizacija stromoje, hipersekrecinio tipo liaukos su *Arias-Stella* reakcija), galbūt susiję su gestacija. Trofoblasto, choriono ar vaisiaus audinių tirtoje medžiagoje nėra. Didėjant hCG kiekiui organizme, nėštumo nerasta nei gimdoje, nei už jos ribų, buvo atlikta pilvo ir mažojo dubens organų kompiuterinė tomografija (KT). Praėjus penkioms dienoms po gimdos ertmės abrazijos, prieš atliekant KT, dar kartą buvo tirta hCG koncentracija pacientės kraujo serume. Hormono koncentracija vis didėjo – 30 596 U/l. Atlikus pilvo ir mažojo dubens KT buvo nustatyta: būklė po laparoskopijos, gimdos kūno dešiniojo kampo rezekcijos; aiškios gestacinės pūslelės dubenyje ir pilve nediferencijuojamos; dešinėje kiaušidėje geltonkūnio cista; gimdos kūno dešiniojo kampo srityje žemesnio tankio zona – gali būti ir pooperacinių pakitimų; radiniai bus tikslinami dubens MRT tyrimu. Tą pačią dieną buvo atlikta mažojo dubens organų magnetinio rezonanso tomografija, kurios išvada: Dubenyje gesta-

cinės pūslelės nediferencijuojamos; pakitimai dešiniame gimdos kampe labiau panašūs į pooperacinius; dešinės kiaušidės geltonkūnio cista; toliau kylant hCG rodikliams – tikslinga dubens MRT kartoti stebint dinamiką. Buvo nuspręsta kartoti hCG koncentracijos kraujo serume nustatymo tyrimą ir lygia greta iširti laisvo β -hCG koncentraciją kraujo serume: HCG nesustojo augęs – 31 277 U/l, o laisvo β -hCG koncentracija kraujo serume buvo 93,1 mkg/l (norma < 2,0 mkg/l). Pradėta laisvo β hCG hormono koncentracijos stebėseną. Per 12 dienų ši hCG hormono forma kito laipsniškai mažėdama: 75,2; 37,1; 17,8 mkg/l. Nors nesparčiai, bet taip pat mažėjo ir bendro hCG hormono koncentracija pacientės kraujo serume: pasiekė 11 770 U/l. Tuomet moteris dar kartą konsultuota akušerio ginekologo. Ji niekuo nesiskundė, jautėsi gerai, prasidėjo mėnesinės. Apžiūros ir vidinių genitalijų sonoskopijos metu nukrypimų nuo normos nerasta ir jokios patologijos nenustatyta. Tuo remiantis buvo diagnozuotas pasibaigęs neaiškios lokalizacijos nėštumas. Rekomenduota dar kartą ambulatoriškai tirti bendrą ir laisvą β -hCG koncentraciją kraujo serume po 3 savaičių, norint įsitikinti, jog koncentracija krinta ar jau normalizavosi. Taigi po trijų savaičių šio tyrimo rezultatai buvo: laisvo β -hCG < 2 mkg/l (pasiekė normą), tačiau bendras hCG vis dar viršijo normos ribas – 154 U/l.

Diskusija

Ektopinis nėštumas – tai nėštumas, kai apvaisinta kiaušialąstė įsitvirtina (implantuojasi) neįprastoje vietoje, ne gimdos dugno gleivinėje. Gemalo išskiriami fermentai leidžia jam įsitvirtinti įvairiuose audiniuose. Didžioji dauguma ektopinių nėštumų (apie 96 %) vystosi kiaušintakyje, nors galimos ir kitos vietos: netaisyklinga prisitvirtinimo vieta gimdoje, gimdos kaklelyje, kiaušidėse ar pilvo ertmėje. Ektopinis nėštumas pasitaiko ~ 2 % visų nėštumų ir sudaro ~ 10 % nėščių moterų mirties priežasčių [5].

Besivystantis neįprastoje vietoje embrionas dažniausiai neišgyvena. Kitu atveju augantis vaisius ir placentos audiniai gali pažeisti moters dubens organus, kuriuose vystosi nėštumas, jų vientisumą. Todėl svarbu laiku nustatyti nenutrūkusį ektopinį nėštumą.

Ektopinio nėštumo diagnostikos rekomendacijos:

Įtarus ektopinį nėštumą reikia įvertinti pacientės hemodinamikos stabilumą. Jei hemodinamika nėra stabili,

įtariamas persileidimas, galėjęs pažeisti motinos dubens organų vientisumą, rekomenduojama neatidėliotina chirurginė intervencija. Jei hemodinamika stabili, visų pirma reikėtų atlikti transvaginalinę echoskopiją (TVE), tirti hCG ir β -hCG koncentraciją pacientės kraujo serume [6]. Transvaginalinė echoskopija ir β -hCG hormono koncentracijos padidėjimas kraujyje (>1500 IU/L) yra labai specifinis tyrimų kompleksas (specifiškumas 100 %) ektoziniam nėštumui nustatyti. Jo jautrumas yra 67–100 %. Tačiau neigiamas dubens organų echoskopinis tyrimas nepaneigia ektozinio nėštumo diagnozės. Ultragaršiniu tyrimu 15–26 % ektozinio nėštumo atvejų nenustatoma. Jei hCG koncentracija kraujyje yra didesnė nei 1500 IU/L, tačiau nėštumo ultragaršu nematoma, visgi ektozinis nėštumas yra tikėtinas [7].

Nenustačius ektozinio nėštumo lokalizacijos, rekomenduojama šiuos tyrimus kartoti, atlikti gimdos ertmės abraziją (kiuretaža) arba diagnostinę laparoskopiją.

Siekiant diferencijuoti ektozinį nėštumą nuo normalaus, galima tirti progesterono koncentraciją kraujyje, tačiau šio tyrimo jautrumas viso labo tėra 15 %, o specifiškumas > 90 % [5].

Jei vis dar nepavyksta nustatyti ektozinio nėštumo lokalizacijos, rekomenduojama atlikti magnetinio branduolių rezonanso tyrimą (MRT) ir kompiuterinę tomografiją.

Jeigu po persileidimo hCG nesumažėja iki nulio (maždaug po mėnesio), įtariama trofoblasto liga (nėštumo audinių liga), kuri pažeidžia gimdą ir gali būti gerybinė arba piktybinė. Trofoblasto ligų atvejais (pavyzdžiui, choriokarcinomos) hCG kiekis yra didelis ir nemažėja net pašalinus vaisių. Choriokarcinoma, viena iš trofoblastinių ligų, išsivysto gimdoje dažniausiai iš pūslinės išvisos, po abortų ar normalaus nėštumo. Nors ji sudaro tik 1 % ginekologinių navikų, tačiau labai svarbu laiku atlikti hCG tyrimą.

HCG koncentracijos kraujyje gali išaugti ir sergant netrofoblastinėmis ligomis. Šis gonadotropinas naudojamas kaip vėžio žymuo gemalo navikų (pvz., kiaušidės ar sėklidės germinaliųjų ląstelių karcinomos) diagnostikai ir jų stebėsenai. Įtirta, kad šiems navikams būdinga didelė hCG laisvosios β grandinės koncentracija, todėl rekomenduojama tirti ne bendrojo hCG, bet jo laisvosios β grandinės koncentraciją [8].

HCG kiekis kraujyje gali padidėti sergant šlapimo pūslės, šlapimo takų, inkstų, prostatos, virškinimo trak-

to, plaučių, krūties vėžiu, kitomis ginekologinėmis ir kai kuriomis hematologinėmis vėžinėmis ligomis, esant neuroendokrininiams navikams [8]. Tačiau šių navikų atvejais tyrimo jautrumas ir specifiškumas nėra didelis, todėl klinikinėje praktikoje jis nenaudojamas.

Tiesa, ir nenėščių, sveikų moterų ($< 2,7$ U/l), ir vyrų ($< 1,1$ U/l) organizme hipofizė gamina ir išskiria žmogaus chorioninį gonadotropiną, žinomą kaip hipofizės hCG. Tačiau šio gonadotropino molekulė šiek tiek skiriasi nuo placentos hCG. Hipofizės hCG koncentracija vyrų ir premenopauzinio laikotarpio moterų organizme yra labai maža. Jo koncentracija padidėja perimenopauzinio laikotarpio moterų, taip pat vyresnio amžiaus vyrų organizme [9].

Retai, tačiau pasitaiko ir kliniškai reikšmingų hCG klaidingai teigiamų koncentracijos pakilimų. Klaidingai teigiami tyrimų rezultatai gali būti gaunami dėl analitinių klaidų ir (arba) tyrimams naudojamų įrenginių, prietaisų gedimų.

Dažniausios analitinės klaidos, dėl kurių gaunamas klaidingai teigiamas hCG koncentracijos pakilimas, yra šios:

- Žmogaus kraujo serume esantys heterofiliniai antikūnai gali reaguoti su tyrimų komponentų sudėtyje esančiais imunoglobulinais, sukeldami interferenciją atliekant *in vitro* imuninius tyrimus. Pacientų, dažnai kontaktuojančių su gyvūnais ar gyvūnų serumo produktais, mėginiuose gali įvykti interferencija, nulėmianti klaidingą rezultatą [10]. Yra duomenų, kad ir kraujyje esantis reumatoidinis faktorius ar autoantikūnai gali duoti tokius tyrimų rezultatus. *Immulate2000* reagentai buvo sukurti siekiant sumažinti interferencijos pavojų, tačiau nedidelė sąveikos tarp reto serumo ir tyrimo komponentų galimybė išlieka.
- Kiti endogeniniai komponentai kraujo serume, pavyzdžiui, bilirubinas, hemoglobinas ar lipidai, gali lemti klaidingus, netikslius tyrimo rezultatus. Bilirubino koncentracija iki 200 mg/l, hemoglobino iki 384 mg/dl, o trigliceridų koncentracija < 3000 mg/dl neturi poveikio rezultatams tyrimo tikslumo ribose [10].
- Fibrino sankaupos (konglomeratai) kraujo serume dėl netinkamai paimto mėginio gali lemti rezultatų netikslumus.

Rezultatai, gauti atlikus šį tyrimą, diagnostiniais tikslais visada turi būti įvertinti atsižvelgiant į klinikinę apžiūrą, paciento ligos istoriją ir kitus duomenis.

Amerikos akušerių ginekologų koledžo (*The American College of Obstetricians and Gynecologists – ACOG*) Ginekologų komitetas (*the Committee on Gynecologic Practice*) pareiškė savo nuomonę, kaip elgtis tais atvejais, kai hCG tyrimo rezultatai neatitinka paciento klinikinės būklės. Svarbu, kad gydytojas pakartotinai peržvelgtų visą surinktą informaciją ir iš naujo įvertintų paciento būklę. Taip pat jis turėtų apsvarstyti galimybę, kad kitos klinikinės būklės gali lemti padidėjusią hCG koncentraciją. Labai svarbu bendrauti su laboratorijų darbuotojais. Gydytojas negali atmesti laboratorijos techninių klaidų, paneigti analizę trukdančių veiksnių ir įrenginio gedimo prielaidų, todėl dėl šių klausimų turėtų kreiptis į laboratorijos darbuotojus. Klaidingai neigiamų rezultatų galima išvengti pakartojant kraujo serumo tyrimą, taip pat atliekant hCG koncentracijos

nustatymo šlapime tyrimą. Rekomenduojama peržiūrėti paciento klinikinę būklę ir apsvarstyti papildomų diagnostinių tyrimų planą.

Išvados

Tiriant hCG koncentraciją kraujo serume svarbu tiksliai žinoti klinikinių būklių biocheminę išraišką ir nuspręsti, kurią hCG formą (bendrąją ar β -hCG) norima tirti.

HCG dažniausiai yra susijęs su nėštumu, tačiau negalima pamiršti ir kitų, net ir labai retų klinikinių būklių, kurios lemia hCG kiekio kilimą organizme, todėl svarbu vertinti ne vieno tyrimo rezultata, o bendrą klinikinį vaizdą, visą surinktą informaciją, apsvarstyti visas klinikinės diagnozės galimybes ir prirėikus sudaryti papildomų diagnostinių tyrimų planą.

LITERATŪRA

1. U.S. Department of Health and Human Services, U.S. Food and Drug Administration. Blood Human Chorionic Gonadotropin (hCG) Assays: What Laboratorians Should Know about False-Positive Results. Internetinė prieiga: <<http://www.fda.gov/MedicalDevices/Safety/AlertsandNotices/TipsandArticlesonDeviceSafety/ucm109390.htm>>.
2. Pandey D, Kumar P, Chaturvedi G, Maniarasi. Human Chorionic Gonadotropin: “The Magic Molecule”. *The Internet Journal of Endocrinology* 2008; 5 (1).
3. Laurence A. Cole. The USA hCG Reference Service. HCG structure: A logical perspective. *Asian Pacific Journal of Reproduction* 2012; 1(4): 287–292.
4. Zita Aušrelė Kučinskienė. Klinikinės biochemijos ir laboratorinės diagnostikos pagrindai. Vilnius, 2008; p. 374–398.
5. Anne-Marie Lozeau, M.D., M.S., and Beth Potter, M.D. Diagnosis and Management of Ectopic Pregnancy. *Am Fam Physician* 2005 Nov 1; 72(9): 1707–1714.
6. American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG). Medical management of ectopic pregnancy. *Obstetrics & Gynecology* 2008; 111: 1479–1485.
7. Togas Tulandi, MD, MHCM. Robert L. Barbieri, MD. Sandy J Falk, MD. Ectopic (tubal) pregnancy (Beyond the Basics). Internetinė prieiga: <<http://www.uptodate.com/contents/ectopic-tubal-pregnancy-beyond-the-basics>>.
8. Carl L Buckner, Lisa Wilson and Christine N. Papadea. Department of Pathology & Laboratory Medicine, and Department of Obstetrics & Gynecology, Medical University of South Carolina, Charleston, South Carolina. An Unusual Cause of Elevated Serum Total β hCG. *Annals of Clinical & Laboratory Science* 2007; 37(2): 186–191.
9. Alan H. B. Wu, Jean Branch, Anne L. Schafer, Elizabeth J. Murphy. Mild Positive Human Chorionic Gonadotropin in a Perimenopausal Female: Normal, Malignancy, or Phantom. DOI: 10.1309/LMCA2WT1OXRQW9RV. *LabMedicine* 2009; 40: 463–465.
10. Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. The IMMULITE[®] 2000 immunoassay system specification. ISO13485. Catalog number: L2KCG6 2010; p. 19–25.
11. The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Medical treatment of ectopic pregnancy: a committee opinion. *Fertility and Sterility* 2013; 100 (3): 638–644.