

UDK 618.3:616.12-008.331.1 ; 618.3-074:577.1

ISSN 035-2899, 37(2012) br.4 p.233-238

ZNAČAJ RANOG ODREĐIVANJA MOKRAĆNE KISELINE, KREATININA I UREE U SERUMU I PLODOVOJ VODI U PREEKLAMPSIJI

IMPORTANCE OF EARLY DETECTION OF URIC ACID, CREATININE AND UREA IN SERUM AND AMNIOTIC FLUID IN PREECLAMPSIA

Ana Jakovljević (1), Mirjana Bogavac (2), Aleksandra Nikolić (2), Jan Sudi (3)

(1) UNIVERZITET U NOVOM SADU, MEDICINSKI FAKULTET NOVI SAD, KLINIČKI CENTAR VOJVODINE, CENTAR ZA LABORATORIJSKU MEDICINU, (2) UNIVERZITET U NOVOM SADU, MEDICINSKI FAKULTET NOVI SAD, KLINIKA ZA GINEKOLOGIJU I AKUŠERSTVO, KLINIČKI CENTAR VOJVODINE, (3) ZAVOD ZA ZDRAVSTVENU ZAŠTITU RADNIKA NOVI SAD

Sažetak: Uvod. Preeklampsija predstavlja težak oblik hipertenzije uzrokovan trudnoćom. Javlja se u 6-8% svih trudnoća. Neadekvatno snabdevanje placente krvlju smatra se prvim okidačem, koje sledstveno dovodi do otpuštanja različitih hemijskih medijatora koji oštećuju endotelijum, dovode do promene metabolizma i inflamacije. Cilj ovog rada bio je ispitivanje vrednosti mokraćne kiseline, uree i kreatinina u serumu i plodovoj vodi kod trudnica koje su razvile preeklampsiju u odnosu na zdrave trudnice, kako bi se utvrdio značaj određivanja ovih markera u ranoj trudnoći u cilju što ranijeg otkrivanja i mogućnosti prevencije ovog poremećaja. Materijal i metode. Studija je obuhvatila 59 trudnica podeljenih u dve grupe: u ispitivanoj grupi su bile 11 trudnica koje su razvile preeklampsiju nakon 20. nedelje gestacije i kontrolna grupa sa 48 zdravih trudnica. Svim trudnicama je između 16. i 19. nedelje gestacije vađena krv i rađena amniocenteza indikovana od strane genetičara, gde su u uzorcima krvi i plodove vode određivane vrednosti mokraćne kiseline, uree i kreatinina kolorimetrijskim metodama. Rezultati. Vrednosti mokraćne kiseline u plodovoj vodi su statistički bile značajno veće kod trudnica koje su razvile preeklampsiju u odnosu na kontrolnu grupu, dok su vrednosti mokraćne kiseline i kreatinina u serumu ispitivane grupe bile više u odnosu na zdrave trudnice a vrednosti uree u serumu su bile približne u obe grupe trudnica. Zaključak. Rezultati naših istraživanja ukazuju na značaj mokraćne kiseline u patogenezi preeklampsije i da bi se mokraćna kiselina kao biohemijski marker mogao koristiti u ranom skriningu trudnica sa preeklampsijom.

KLjučne reči: preeklampsija, plodova voda, mokraćna kiselina, kreatinin, urea.

Summary: Introduction: Preeclampsia is a severe form of hypertension caused by pregnancy. It can happen in 6 to 8% of all pregnancies. The first trigger is considered to be the inadequate supply of placenta with blood, which eventually leads to releasing various mediators that damage endothelium and cause changes of metabolism and inflammation. The Aim of this study was to evaluate the levels of uric acid, urea and creatinine in serum and amniotic fluid in pregnant women with preeclampsia in comparison to healthy pregnant women, in order to determine the importance of these markers in pregnancy so as to ensure early detection and the possibility of preventing this disorder. Material and methods: The study included 59 pregnant women divided in two groups: the experimental group of 11 pregnant women with preeclampsia occurring after 20th week of pregnancy and the control group with 48 healthy pregnant women. In both groups, blood samples were taken between 16th and 19th week of pregnancy and amniocentesis indicated by geneticists was performed; in blood samples and amniotic fluid uric acid, urea and creatinine were determined by colorimetric methods. Results: The levels of uric acid in amniotic fluid were statistically significantly higher in pregnant women with preeclampsia comparing to the control group, the levels of urea and creatinine in serum were higher in the experimental group, and the levels of urea in serum were similar in both groups. Conclusion: The results of the study show the importance of uric acid in the pathogenesis of preeclampsia and the possibility of using uric acid as a biochemical marker in the early screening of pregnant women in risk of preeclampsia.

Key words: preeclampsia, amniotic fluid, uric acid, creatinine, urea

UVOD

Preeklampsija je složen multisistemski i multifaktorijski sindrom specifičan za trudnoću. Mani-

festuje se pojavom hipertenzije i proteinurije posle 20. nedelje gestacije. [1] Vodeći je uzrok maternalnog i fetalnog morbiditeta i mortaliteta. Smatra se

da je 15% svih prevremenih porođaja i 25% zastoja u razvoju ploda uzrokovano preeklampsijom, širom sveta nezavisno od socioekonomskog statusa. [2] Uprkos brojnim istraživanjima, tačni uzroci preeklampsije još uvek nisu otkriveni, kao ni dijagnostički testovi koji bi identifikovali trudnice kod kojih će se ovaj sindrom razviti. Smatra se da angiogenetski faktori, imunološki činioci, insulinska rezistencija i inflamacija čine patogenetsku osnovu ovog sindroma. [3] S obzirom na nepoznat uzrok ovog sindroma, kauzalna terapija izostaje. Primenom antihipertenziva snižava se trenutno krvni pritisak trudnice sa preeklampsijom, da bi posle izvesnog vremena ponovo došlo do njegovog porasta te je u velikom broju slučajeva najbolji vid lečenja završetak trudnoće, odnosno porođaj. [4]

Za vreme trudnoće koncentracija kreatinina i mokraćne kiseline normalno opada zbog povećane jačine glomerulske filtracije. [5] Povišene vrednosti mokraćne kiseline kod trudnica sa preeklampsijom predstavljaju čest klinički nalaz i istražuju se već dugi niz godina. Njene povišene vrednosti mogu biti čak 40% više u serumu trudnica sa preeklampsijom u odnosu na zdrave trudnice [2].

Istraživanja čak sugerišu da mokraćna kiselina nije samo marker težine preeklampsije već je i direktni učesnik u patogenezi ovog sindroma, kao promotor inflamacije, oksidativnog stresa i endotelijalne disfunkcije [6]. Sve ovo ukazuje na činjenicu da bi njegove vrednosti mogle biti povišene mnogo ranije nego što dođe do razvoja kliničke slike preeklampsije [6,7].

Plodova voda predstavlja medijum sa višestrukom ulogom. Pored mehaničke i termoregulatorne funkcije, ona ima značajne transportne, metaboličke, antiinflamatorne i druge funkcije neophodne za razvitak ploda u toku trudnoće. Amniomska tečnost sadrži različite proteine, hormone, prostaglandine, kateholamine, enzime, elektrolite i dr. Poslednjih godina ispitivanju plodove vode i elemenata koji se u njoj nalaze daje se veliki dijagnostički značaj. [8,9]

Cilj ove studije je ispitivanje vrednosti mokraćne kiseline, uree i kreatinina u serumu i plodovoj vodi kod trudnica koje su razvile preeklampsiju u odnosu na zdrave trudnice.

MATERIJAL I METODE

Istraživanje je sprovedeno kao prospektivna studija na Klinici za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Vojvodine u Novom Sadu. U istraživanje je uključeno 59 trudnica, kod kojih je urađena rana amniocenteza između 16. i 19. nedelje gestacije (NG), indikovana od strane genetičara a nakon sprovedenog skrininga u prvom trimestru trudnoće.

Kriterijumi za uključivanje:

1. hospitalizovane trudnice starosti između 18 i 43 godina
2. gestacijska starost između 16 i 19 nedelja
3. jedноплодна trudnoća
4. intaktni plodovi ovojci
5. bez genetskih anomalija ploda

Kriterijumi za isključivanje:

1. trudnice sa prethodnom istorijom hronične hipertenzije, dijabetesa, bubrežnih oboljenja, endokrinih i autoimunih oboljenja.

Sve trudnice koje su bile uključene u istraživanje, praćene su do kraja trudnoće, odnosno porođaja. Kontrolnu grupu su činile sve trudnice (n=48) sa normalnom trudnoćom. Ispitivanu grupu su činile sve trudnice (n=11) koje su nakon 20 NG razvile preeklampsiju. Preeklampsija je dijagnostikovana izmerenim povišenim krvnim pritiskom nakon 20. nedelje gestacije (sistolni ≥ 140 mmHg ili dijastolni ≥ 90 mmHg) u minimalno dva merenja (sa razmakom od 6h) i proteinurijom većom od 300mg za 24 h, kod trudnica bez prethodne istorije povišenog krvnog pritiska.[4]

Prilikom hospitalizacije i pripreme za amniocentezu, svim trudnicama je urađen ultrazvučni pregled radi procene fetalnog rasta i razvoja, vijabilnosti ploda i određivanja gestacijske starosti. Sve trudnice su bile saglasne za učestvovanje u istraživanju, što su potvrdile svojim pisanim pristankom u saglasnosti sa kriterijumima Helsinške deklaracije. Protokol je odobrila Etička komisija Medicinskog Fakulteta u Novom Sadu i Kliničkog centra Vojvodine (Novi Sad).

Uzorkovanje:

U toku amniocenteze uzorci plodove vode su uzimani sterilnim špricovima, kod trudnica gestacijske starosti između 16 i 19 nedelja. Nakon centrifugiranja na 3000 obrtaja u trajanju od 5 min., uzorci su odmah zamrzavani i skladišteni na temperaturi -70°C.

Za određivanje uree, kreatinina i mokraćne kiseline korišten je hemijski analizator BS-200 Mindray i reagensi: fluitest, analyticon, biotechnologies AG, Am Mühlberg, Germany.

Za određivanje uree korišten je princip gde u prisustvu ureaze urea se hidrolizuje uz nastajanje NH₃ i CO₂. Detekcioni limit ove metode je 0,083 mmol/L. Anaizirana zapremina uzorka 10 μ L. Tačlasna dužina na kojoj se analizira je 340 nm.

Za određivanje kreatinina u plodovoj vodi korištena je kinetička kolorimetrijska metoda po JAFFÉ. Detekcioni limit ove metode je 8,8 μ mol/L. Anaizirana

zapremina uzorka 15 μ L. Talasna dužina na kojoj se analizira je 510 nm.

Za određivanje mokraćne kiseline u plodovoj vodi korištena je kolorimetrijska endpoint analiza (Urikaza-PAP-metoda). Detekcioni limit ove metode je 11,9 μ mol/L. Analizirana zapremina uzorka 20 μ L. Talasna dužina na kojoj se analizira je 556 nm.

Statistička obrada podataka:

Statistička analiza je urađena statističkim paketom SPSS (ver.13) za Windows i p vrednosti manje od 0,05 su smatrane statistički značajnim. Studentov t-test i Mann-Whitney test su korišćeni za upoređivanje varijabli između dve grupe, a Pearson korelacija i regresiona analiza za ispitivanje povezanosti varijabli unutar grupa.

REZULTATI

Prospektivno istraživanje je obuhvatilo 11 trudnica ispitivane grupe starosti između 21 i 43 godine i 48 trudnica kontrolne grupe starosti između 19. i 42 godine. U tabeli 1 su prikazane demografske karakteristike svih trudnica uključenih u istraživanje (starost trudnice, gestacijska starost, nedelja gestacije na porođaju i BMI pre trudnoće). Statistički značajna razlika postoji između ispitivanih grupa u nedelji završetka trudnoće ($p < 0,001$), dok između godina života, nedelja gestacije pri amniocentezi i BMI pre trudnoće nema statistički značajne razlike.

Tabela 1 Glavne demografske karakteristike trudnica (t-test)

	Preeklampsija (n=11)	Kontrolna grupa (n=48)	p vrednosti
Godine života	34,3 \pm 6,36	31,4 \pm 5,86	0,143
Nedelja gestacije pri amniocentezi	17,5 \pm 0,77	17,4 \pm 0,67	0,726
Nedelja gestacije na porođaju	37,7 \pm 3,95	39,6 \pm 1,06	<0,001
BMI, kg/m ² pre trudnoće	25,1 \pm 3,5	24,8 \pm 3,1	0,31

U tabeli 2 su prikazane komparacije srednjih vrednosti mokraćne kiseline, uree i kreatinina u plodovoj vodi između ispitivane i kontrolne grupe. Vred-

nosti mokraćne kiseline su statistički značajno više kod trudnica koje su razvile preeklampsiju u odnosu na kontrolnu grupu ($p=0,005$).

Tabela 2 Srednje vrednosti mokraćne kiseline, uree i kreatinina u plodovoj vodi (Mann-Whitney U test)

	Preeklampsija (n=11)	Kontrolna grupa (n=48)	p vrednosti
Mokraćna kiselina (μ mol/L)	160 \pm 73,1	97,4 \pm 58,9	0,005
Urea (mmol/L)	1,30 \pm 0,92	1,66 \pm 1,08	0,337
Kreatinin (μ mol/L)	19,5 \pm 12,8	25,1 \pm 15,3	0,414

U tabeli 3 su prikazane komparacije srednjih vrednosti mokraćne kiseline, uree i kreatinina u serumu,

gde nisu dobijene statistički značajne razlike između ispitivane i kontrolne grupe.

Tabela 3 Srednje vrednosti mokraćne kiseline, uree i kreatinina u serumu

	Preeklampsija (n=11)	Kontrolna grupa (n=48)	p vrednosti
Mokraćna kiselina (μ mol/L)	174 \pm 91,4	150 \pm 96,8	0,767
Urea (mmol/L)	1,96 \pm 1,14	2,03 \pm 1,09	0,860
Kreatinin (μ mol/L)	36,0 \pm 19,4	29,5 \pm 20,2	0,265

Regresiona analiza uticaja starosti trudnice i nedelje gestacije na vrednosti mokraćne kiseline, uree i

kreatinina u plodovoj vodi i serumu prikazani su u tabelama 4 i 5.

Tabela 4 Korelacija parametara plodove vode sa starošću trudnice i nedeljom gestacije

Parametar	starost	NG
Mok. kiselina	r	0,179
	p	0,598
Kreatinin	r	0,138
	p	0,685
Urea	r	0,092
	p	0,787

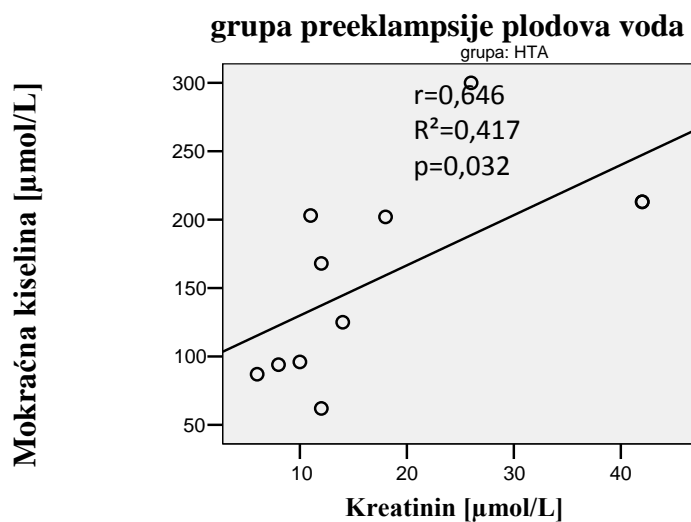
Tabela 5 Korelacija parametara u serumu sa starošću trudnice i nedeljom gestacije

Parametar		starost	NG
Mok. kiselina	r	0,589	0,585
	p	0,219	0,223
Kreatinin	r	0,692	0,209
	p	0,085	0,653
Urea	r	0,382	0,553
	p	0,455	0,255

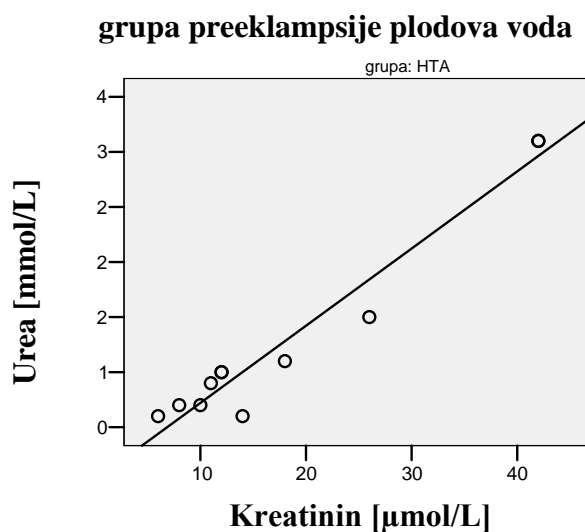
Regresiona analiza u grupi trudnica koje su razvile preeklampsiju pokazuje da nivo mokraćne kiseline pozitivno koreliše sa nivoom kreatinina u plodovoj

vodi ($p=0,032$). Takođe, postoji pozitivna korelacija uree sa nivoom kreatinina u plodovoj vodi ($p<0,001$). (grafikon 1 i 2).

Grafikon 1. Korelacija nivoa mokraćne kiseline sa nivoom kreatinina u plodovoj vodi



Grafikon 2. Korelacija nivoa uree sa nivoom kreatinina u plodovoj vodi



DISKUSIJA

Mokraćna kiselina predstavlja krajnji produkt katabolizma purinskih nukleozida. Sintetiše se pod uticajem ksantin oksidaze i većina cirkulišuće mokraćne kiseline se proizvodi u jetri. Kod normalne trudnoće serumske koncentracije opadaju za 25% do 35% u ranoj trudnoći, ali polako rastu do kraja trudnoće, kada dostižu visoke vrednosti. [10] U mnogim istraživanjima se zapaža da je serumski nivo mokraćne kiseline znatno viši kod trudnica sa preeklampsijom u odnosu na zdrave trudnice (2,3,9) Smatra se da je povećanje nivoa mokraćne kiseline u serumu kod pacijentkinja sa preeklampsijom sekundarni odraz renalne disfunkcije usled smanjenog renalnog klirensa urata. [10] Ali Powers et al. su pokazali da promene u glomerulskoj filtraciji udružene sa preeklampsijom mogu biti uzrok povećanja nivoa mokraćne kiseline pri kraju trudnoće, ali ne mogu biti jedini uzrok povećanja ovog markera u ranoj trudnoći. Signifikantno povećanje serumskog nivoa mokraćne kiseline kod trudnica koje su razvile preeklampsiju ne mora biti praćeno povećanjem serumskog nivoa kreatinina, što ukazuje na to da povećanje mokraćne kiseline u serumu ovih trudnica možda nije uzrokovano promenama u glomerulskoj filtraciji [2,11]. Mnoga istraživanja ukazuju da je povećanje serumskog nivoa mokraćne kiseline, ustvari, marker povećane aktivnosti ksantin oksidaze, pri tome uzroci njenog povećanja mogu biti i u poremećenoj sintezi i sekreciji ovog enzima. Istraživanja ukazuju i na značaj povišenih vrednosti mokraćne kiseline kao nezavisnog faktora rizika za razvoj kardiovaskularnih oboljenja, pogotovo kod žena [12,13,14]. Mazzali et al su pokazali da inhibicijom aktivnosti urikaze dolazi do razvoja hipertenzije i renalnog oštećenja kod pacova, kao i da povišene vrednosti ovog markera mogu direktno da utiču na promene vaskularne funkcije i pojavu inflamacije. [15] Shi et al su pokazali da povećan nivo mokraćne kiseline koji se oslobađa iz ćelija koje su zahvaćene infekcijom, menja i pojačava imuni odgovor. [16]

Rezultati naših istraživanja su u skladu sa literaturom (2,10,12,16,17), i ukazuju na više vrednosti mokraćne kiseline i kreatinina u serumu trudnica sa preeklampsijom u odnosu na zdrave trudnice, dok su vrednosti uree u serumu bile približne u obe grupe trudnica.

Vrednosti mokraćne kiseline u plodovoj vodi su statistički bile značajno veće kod trudnica koje su razvile preeklampsiju u odnosu na kontrolnu grupu. Kod trudnica sa preeklampsijom se zapaža statistički značajna korelacija nivoa mokraćne kiseline sa nivoom kreatinina u plodovoj kao i statistički

značajna pozitivna korelacija uree sa nivoom kreatinina u plodovoj vodi.

Istraživanja ukazuju na značaj određivanja biohemijskih markera u ranoj trudnoći, posebno kod trudnica sa anamnestički dobijenim podacima o povišenom krvnom pritisku ili preeklampsiji u prethodnim trudnoćama.

Ovakvi rezultati bi se mogli protumačiti i kroz značaj sagledavanja preeklampsije kao kompleksnog heterogenog sindroma, na koji mogu da utiču oštećenje tkiva, oksidativni stres, inflamacija i metabolički sindrom [3]

Rezultati istraživanja dali bi doprinos u sagledavanju značaja mokraćne kiseline u patogenezi preeklampsije, kao i mogućoj prevenciji njenog razvika kroz higijensko dijetetski režim u ranoj trudnoći, kontroli krvnog pritiska i uključivanju antihipertenzivne terapije [15].

Određivanje mokraćne kiseline, uree i kreatinina u serumu, pa čak i u plodovoj vodi, u svakom slučaju nisu dovoljni za ranu detekciju preeklampsije, ali mogli bi dati značajan doprinos u razjašnjenju mehanizma preeklampsije kao i u njenom ranom skriningu.

ZAKLJUČAK

Rezultati naših istraživanja ukazuju na to da bi se mokraćna kiselina kao biohemijski marker osim u serumu mogao koristiti i u plodovoj vodi, u ranom skriningu trudnica sa preeklampsijom.

Neophodna su opsežnija istraživanja postojećih kao i istraživanja novih markera koji bi mogli pomoći ne samo u razjašnjenju patogeneze preeklampsije već i mogućnosti njene predikcije kako bi se pravovremeno ovakva stanja mogla otkriti i lečiti.

LITERATURA

1. Stefanović M, Vukomanović P, Milosavljević M, Kutlešić R, Popović J, Tubić-Pavlović A. Insulin resistance and C-reactive protein in Preeclampsia. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences* 2009; 9(3):235-238.
2. Powers RW, Bodnar LM, Ness RB, Cooper KM, Gallahe MJ, Frank MP, et al. Uric acid concentrations in early pregnancy among preeclamptic women with gestational hyperuricemia at delivery. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2006; 194:160.e1-160.e8.
3. Solomon CG, Seely EW. Hypertension in Pregnancy. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* 2011;40:847-863.
4. Solomon CG, Seely EW. Preeclampsia – Searching for the Cause. *The New England Journal of Medicine* 2004;350;7: 641-642.
5. Gungor ES, Danisman N, Mollamahmutoglu L. Relationship between serum uric acid, creatinine, albumin and gestational diabetes mellitus. *Clin. Chem. Lab. Med* 2006; 44(8):974-977.
6. Johnson RJ, Kang DH, Feig D, Kivlighn S, Kanellis J, Watanabe S, et al. Is there a pathogenetic role for uric acid in hypertension and cardiovascular and renal disease? *Hypertension* 2003; 41:1183-90.

7. Peracoli MTS, Bannwart CF, Cristofalo R, Borges VTM, Araujo Costa RA, Witkin SS, et al. Increased reactive oxygen species and tumor necrosis factor-alpha production by monocytes are associated with elevated levels of uric acid in pre-eclamptic women. *American Journal of Reproductive Immunology* 2011; (66) 460-467.
8. Bogavac M, Lakić N, Simin N, Nikolić A, Sudji J, Božin B. Biomarkers of oxidative stress in amniotic fluid and complications in pregnancy. *The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine* 2012; 25(1):104-8.
9. Anceschi MM, Piazzè JJ, Maranghi PL, Ruozi-Berretta AR, Cosmi EV. Maternal serum uric acid as predictor of fetal acidemia. *International Journal of Gynecology and Obstetrics* 2002; 77:35-36.
10. Chappel LC, Seed PT, Briley A, Kelly FJ, Hunt BJ, Charnock-Jones DS, et al. A longitudinal study of biochemical variables in women at risk of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187:127-36.
11. Redman CW, Sargent IL. The pathogenesis of preeclampsia. *Gynecol Obstet Fertil* 2001; 29:518-22.
12. Johnson RJ, Kivlighn SD, Kim YG, Suga S, Fogo AB. Reappraisal of the pathogenesis and consequences of hyperuricemia in hypertension, cardiovascular disease, and renal disease. *Am J Kidney Dis* 1999;33:225-34.
13. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183:21-22.
14. D-Anna R, Baviera G, Scilipoti A, Leonardi I, Leo R. The clinical utility of serum uric acid measurements in pre-eclampsia and transient hypertension in pregnancy. *Panminerva Medica* 2000;42:101-3.
15. Mazzali M, Hughes J, Kim YG, Jefferson JA, Kang DH, Gordon KL, et al. Elevated uric acid increases blood pressure in the rat by novel crystal-independent mechanism. *Hypertension* 2001; 38:1101-6.
16. Shi Y, Evans JE, Rock KL. Molecular identification of danger signal that alerts the immune system to dying cells. *Nature* 2003; 425:516-21.
17. Wakwe VC, Abudu OO. Estimation of plasma uric acid in pregnancy induced hypertension (PIH). Is the test still relevant? *Afr J Med Sci* 1999;28:155-8.

Adresa autora:

Ana Jakovljević
 Univerzitet u Novom Sadu,
 Medicinski fakultet Novi Sad,
 Klinički centar Vojvodine,
 Centar za laboratorijsku medicinu,
 Hajduk-Veljkova 3.

E-mail: jakovana@gmail.com

Rad primljen:	10. 12. 2012.
Rad prihvaćen:	12. 12. 2012.
Elektronska verzija objavljena:	8. 3. 2013.