

Maternal serum ve üriner lipokalin-2 düzeylerinin değerlendirilmesi

Yeşim Bayoğlu Tekin¹, Ülkü Mete Ural¹, Aynur Kırbaş², Şenol Şentürk¹, Figen Kır Şahin¹

¹Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Rize

²Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Rize

Özet

Amaç: Lipokalin-2 lökositlerden salgılanan bir glikoproteindir. Preeklampsinin indüklediği endotel hasarına ve gestasyonel diyabetin oluşturduğu hiperglisemiye bağlı olarak maternal kanda ve idrarda lipokalin-2 düzeylerinin etkilendiği bilinmektedir. Ancak sağlıklı gebelerdeki düzeylerini araştırarak yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada sağlıklı gebelerde lipokalin-2 düzeylerindeki değişikliklerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışma kesitsel ve vaka kontrollü olarak yürütülmüştür. Aynı hasta grubundan ilk ve üçüncü trimesterde kan ve idrarda lipokalin-2 düzeyleri belirlenerek karşılaştırılmıştır. Ayrıca olguların tam kan parametreleri, biyokimyasal ve üriner verileri de değerlendirilmiştir.

Bulgular: Lipokalin-2 düzeyleri hem maternal kanda hem de idrarda üçüncü trimesterde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşmektedir ($p<0.05$). Ancak diğer hematolojik, biyokimyasal ve üriner parametrelerde anlamlı değişiklik saptanmamıştır ($p>0.05$).

Sonuç: Lipokalin-2 preeklampsi ve gestasyonel diyabet gibi gebelik komplikasyonlarının erken tanısında kullanılan yeni bir markerdir. Sağlıklı gebeliklerde lipokalin-2 seviyelerinin ilk trimestere göre 3. trimesterde daha düşük seviyelere indiği görülmektedir. Ancak daha geniş olgu serileri ile longitudinal olarak maternal serum ve idrar düzeylerinin belirlendiği çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar sözcükler: Gebelik, lipokalin-2, biyokimyasal marker.

Abstract: Analysis of maternal serum and urinary lipocalin-2 levels

Objective: Lipocalin-2 is a glycoprotein secreted by leukocytes. It is known that lipocalin-2 levels are affected in maternal blood and urine depending on the endothelial damage induced by preeclampsia, and hyperglycemia created by gestational diabetes. However, there are not sufficient studies investigating the levels in healthy pregnant women. In our study, we aimed to determine the changes in lipocalin-2 levels of healthy pregnant women.

Methods: This study was carried out as cross-sectional and case-controlled. Lipocalin-2 levels were determined in blood and urine at first and third trimesters in the same patient group and they were compared. Also, full blood parameters, biochemical and urinary data of the cases were also evaluated.

Results: Lipocalin-2 levels decrease at a statistically significant level in both maternal blood and urine at the third trimester ($p<0.05$). However, no significant change was found in other hematologic, biochemical and urinary parameters ($p>0.05$).

Conclusion: Lipocalin-2 is a new marker used in the early diagnosis of gestational complications such as preeclampsia and gestational diabetes. It is seen that lipocalin-2 levels in healthy pregnant women decrease to lower levels in third trimester compared to first trimester. However, further studies are required with more populations where maternal serum and urine levels are determined longitudinally.

Keywords: Pregnancy, lipocalin-2, biochemical marker.

Giriş

Lipokalin-2, lipokalin ailesine ait 25 kDa ağırlığında bir glikoproteindir. İlk kez, insan nötrofilleri içindeki granüllerde bir matriks proteini olarak tanımlanmıştır.^[1] Farklı hücre tiplerinde büyüme ve farklılaşma faktörü

olarak rol alır. Karaciğer, böbrek ve adipoz doku gibi pek çok organda ekspresyonu saptanmıştır. İnflamatuar reaksiyonlarda da yüksek oranda salgılandığı gösterilmiştir.^[2]

Lipokalin-2'nin insülin rezistansı ve hiperglisemi ile yakın ilişkili olan bir inflammatuar marker olduğu ve ges-

Yazışma adresi: Dr. Yeşim Bayoğlu Tekin. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Rize. e-posta: yesimbay@yahoo.com

Geliş tarihi: Ekim 4, 2014; **Kabul tarihi:** Ocak 12, 2015

Bu yazının atfı künyesi: Bayoğlu Tekin Y, Ural ÜM, Kırbaş A, Şentürk Ş, Kır Şahin F. Analysis of maternal serum and urinary lipocalin-2 levels. Perinatal Journal 2015;23(1):30-33.

©2015 Perinatal Tıp Vakfı

Bu yazının çevrimiçi İngilizce sürümü:
www.perinataljournal.com/20150231007
doi:10.2399/prn.15.0231007
Karekod (Quick Response) Code:



deomed®

tasyonel diyabetteki insülin direncinin oluşmasında rol oynadığı belirlenmiştir.^[3] Matür renal epitelden salgılandığı ve renal hasarın erken dönemde tespit edilmesinde faydalı olduğu gösterilmiştir. Ayrıca preeklampsiye bağlı olarak maternal lipokalin-2 seviyelerinin erken dönemde yükseldiği tespit edilmiştir.^[4]

Literatürde lipokalin-2 seviyeleri preeklampsi ve gestasyonel diyabet gibi gebelik ile ilgili komplikasyonlarda yüksek bulunmuş olmasına rağmen normal gebeliklerdeki lipokalin-2 seviyelerinin değerlendirildiği ve gebelik sürecinde oluşan değişikliklerin incelendiği yeterince çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmadaki amaç sağlıklı gebelerde lipokalin-2 düzeylerinin değerlendirilmesi ve gebelik sürecindeki değişikliklerin belirlenmesidir. Böylece gebelik komplikasyonlarında saptanan değişikliklerin fizyolojik bir cevap mı yoksa hastalığın patogenezi sonucu mu oluştuğunu belirlemek daha anlamlı olacaktır. Çalışmamızda gebeliğin tetiklediği herhangi bir hastalık ile komplike olmamış sağlıklı gebelerde ilk ve son trimester lipokalin-2 değerleri tespit edilerek karşılaştırılması ve gebelik sürecinde lipokalin-2 düzeylerindeki değişikliklerin belirlenmesi amaçlanmaktadır.

Yöntem

Bu kesitsel vaka kontrollü bir çalışmadır. Çalışma, bir üniversite hastanesi antenatal polikliniğinde 1 yıllık süre boyunca yürütüldü. Üniversite lokal etik kurulu tarafından çalışmaya onay verildi ve tüm katılımcılara çalışma hakkında bilgi verilerek katılım için onamları alındı.

Çalışmaya 18–35 yaşları arasında ilk antenatal vizit için hastaneye başvuran gebe kadınlar dahil edildi. Kronik hipertansiyon, preeklampsi, pregestasyonel diyabet öyküsü olan ya da önceki gebeliklerinde gestasyonel diyabet tanısı konulan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Ayrıca renal, kardiyovasküler, otoimmün ve hepatobilyer sistem hastalık öyküsü olan kadınlar da çalışmaya dahil edilmedi.

İlk trimester içinde başvuran 9–12. gestasyonel hafta içinde bulunan ve tek, canlı fetüsü tespit edilen hastalardan ilk venöz kan ve idrar örneği alındı. İkinci kan ve idrar örneği ise 34–36. gestasyonel haftalar arasında yapılan vizitte alındı. Kan ve idrar örnekleri santrifüj edildikten sonra supernatant ayrıştırıldı ve -20°C’de saklandı. Katılımcıların olası ek patolojilerinin tespiti ve gebeliğe bağlı olarak oluşabilecek hematolojik, biyokimyasal ve üriner anormalliklerinin belirlenmesi için eş zamanlı olarak tam kan parametreleri, rutin biyokimyasal ve üriner analizleri de yapıldı.

Lipokalin-2 serum ve idrar düzeyleri ELISA yöntemi ile Biovender (Research and Diagnostic Products, Heidelberg, Almanya) firmasının önerileri doğrultusunda çalışıldı. *Intra-assay* ve *inter-assay coefficient of variation* (CV) %7.5 ve %9.7 olarak belirlendi. Sensitivite ise 0.02 ng/ml olarak hesaplandı.

İstatistiksel değerlendirme SPSS istatistik programı (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) version 17.0 kullanılarak yapıldı. Verilerin normal dağılımı Kolmogorov-Smirnov testi ve Lilliefors’ *correction* kullanılarak test edildi. Normal dağılım gösteren veriler ortalama±standart sapma olarak verildi. İlk ve ikinci kan ve idrar örneklerinin karşılaştırılması için *paired-sample* testi kullanıldı. $P < 0.05$ istatistiksel anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular

Çalışmaya ilk trimesterde başvuran 40 sağlıklı gebe dahil edildi. Olguların beşi kontrol vizitlerine gelmedi. İki olgu gestasyonel diyabet, bir olgu ise preeklampsi gelişmesi üzerine çalışma dışı bırakıldı. Toplam 32 olgu ile çalışma tamamlandı. Katılımcıların ortalama yaşı 28.9 ± 5.6 ve gravidası ise 2.0 ± 1.1 olarak tespit edildi. İlk ve son trimester maternal biyokimyasal, hematolojik ve üriner parametreleri karşılaştırıldı. Her iki vizitteki tam kan parametrelerinden hemoglobin, hematokrit ve platelet değerlerinde, biyokimyasal parametrelerden glukoz, BUN, kreatinin, ALT, AST ve üriner pH ve dansitede değerler arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi (**Tablo 1**). Hem idrar hem de serum lipoka-

Tablo 1. Maternal serum ve idrar parametrelerinin trimesterlere göre karşılaştırılması.

	İlk trimester	Son trimester	P değeri
s-lipokalin-2 (ng/ml)	78.79±20.4	60.48±20.69	0.001
u-lipokalin-2 (ng/ml)	76.84±62.50	36.34±29.79	0.022
Glukoz (mg/dL)	90.84±13.29	92.15±13.07	0.837
Kreatinin (mg/dL)	0.57±0.07	0.57±0.06	0.705
BUN (mg/dL)	14.36±4.02	14.8±3.4	0.530
ALT (U/L)	11.45±4.86	11.33±3.96	0.893
AST (U/L)	14.62±3.15	14.70±2.86	0.711
WBC (K/uL)	10.93±1.68	9.94±1.48	0.053
Hb (g/dL)	11.3±1.08	11.58±1.33	0.083
Hct (%)	33.20±2.48	33.96±2.43	0.172
PLT (K/uL)	236.91±61.74	233.47±60.25	0.431
u-pH	6.37±0.76	6.14±0.56	0.217
Dansite	1.012±0.004	1013±0.005	0.507

ALT: Alanin transaminaz; AST: Aspartat transaminaz; BUN: Kan üre azotu; Hb: Hemoglobin; Hct: Hematokrit; PLT: Trombosit; s-: Serum; u-: Üriner; WBC: Beyaz küre.

lin-2 seviyelerinin son trimesterde, ilk trimestere kıyasla anlamlı düzeyde düşük olduğu görüldü (**Tablo 1**).

Tartışma

Çalışmamızda komplike olmayan gebelerde ilk trimester ve son trimesterde maternal serum ve üriner lipokalin-2 düzeyleri değerlendirilmiş ve son trimesterde lipokalin düzeylerinin hem idrar hem de serumda anlamlı derecede düşük olduğu tespit edilmiştir. Edels-tam ve ark. sağlıklı gebelerde yaptıkları çalışmada lipokalin-2 düzeylerini son trimesterde 33, 36 ve 39. gestasyonel haftalarda ve postpartum dönemde değerlendirmiştir. Lipokalin-2 düzeylerinin gestasyonel hafta ile ilişkili olarak arttığını ancak en yüksek düzeye postpartum dönemde eriştiğini bildirmişlerdir.^[5] Artan lipokalin-2 düzeylerinin postpartum enfeksiyonla ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir.

Lipokalin-2 düzeyleri çoğunlukla komplike gebeliklerle ilgili çalışmalara konu olmuştur. Endotelyal hasarı belirlemede kullanılan bir marker olması nedeniyle preeklampsi ile ilgili çalışmalarda kullanılmıştır.^[6] Preeklampsi ile komplike olmuş gebelerde lipokalin-2 seviyelerinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Hatta endotelyal hasara bağlı bu yükselmenin ikinci trimesterden itibaren başladığı ve üçüncü trimesterde artarak devam ettiği gösterilmiştir. Kontrol grubu olarak sağlıklı gebelerin kullanıldığı bu çalışmalarda lipokalin-2 seviyelerinin sağlıklı deneklerde stabil seyrettiğinden bahsedilmiştir.^[6] Benzer olarak Karampas ve ark. preeklampsi ve gelişme geriliği ile komplike olmuş gebelikler ile sağlıklı gebelerin karşılaştırıldığı longitudinal çalışmalarında her üç trimesterdeki lipokalin-2 seviyelerinin normal gebelerde benzer olduğunu saptamışlardır.^[7] Ödüm ve ark ise idrardaki lipokalin-2 seviyelerinin preeklampsinin aksine normal gebelerde daha yüksek düzeylerde seyrettiğini saptamışlardır.^[8] Ancak çalışmamızda lipokalin-2 seviyesinin normal gebelerde stabil seyretmediği, ilk trimestere kıyasla son trimesterde hem idrar hem de serum lipokalin-2 düzeylerinin anlamlı düzeyde düştüğü gösterilmiştir.

Lipokalin-2'nin renal fonksiyon ve glomeruler filtrasyonu belirlemek için kullanıldığı bir çalışmada 130 sağlıklı birey kullanılmış ve gebelikteki her üç trimester değerleri ile gebe olmayan kadınların serum lipokalin-2 düzeyleri karşılaştırılmıştır. Ancak bu çalışma vaka kontrollü olarak yürütülmemiş ve ikinci trimester değerlerinin anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür.^[9]

Çalışmamızın gücü vaka kontrollü olarak yürütülmüş olmasıdır. Aynı hasta grubuna ait ilk ve son trimester lipokalin-2 düzeylerinin hem idrarda hem de serumda değerlendirilmesi ve her iki değerlendirmenin de anlamlı olarak düşük çıkması sonuçların güvenilirliğini göstermektedir. Ancak örneklem büyüklüğünün küçük olması, olguların prekonsepsiyonel, ikinci trimester ve postpartum değerlerinin çalışmada yer almamış olması limitasyonlar arasındadır.

Sonuç

Lipokalin-2 endotel hasarının erken belirteci olarak gerek preeklampsinin erken tanınmasında, gerekse glukoz intoleransı ve hipergliseminin erken tanısında gelecek vadeden bir markerdir. Ancak, mevcut çalışmalar değerlendirildiğinde sağlıklı gebelerdeki lipokalin-2 seviyelerinin standart aralıklarının belirli olmadığı ve gebelik sürecindeki kan ve idrar seviyelerinin nasıl seyrettiği konusunda çelişkili sonuçların mevcut olduğu dikkat çekmektedir. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar, bir marker olarak ciddi gebelik komplikasyonlarının öngörülebilmesi için aday olan lipokalin-2'nin sağlıklı gebelerdeki normal seyrinin belirlenmesine katkıda bulunmaktadır. Bununla birlikte, gelecekte yapılacak olan, sağlıklı gebelerde trimesterlere göre referans aralıklarının belirlendiği, daha geniş vaka serili çalışmalar lipokalin-2'nin tanısallık değerinin artmasına yardımcı olacaktır.

Çıkar Çakışması: Çıkar çakışması bulunmadığı belirtilmiştir.

Kaynaklar

1. Kjeldsen L, Bainton DF, Sengelov H, Borregaard N. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel matrix protein of specific granules in human neutrophils. *Blood* 1994;83:799-807.
2. Cowland JB, Sorensen OE, Sehested M, Borregaard N. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin is up-regulated in human epithelial cells by IL-1 beta, but not by TNF-alpha. *J Immunol* 2003;171:6630-9.
3. Lou Y, Wu C, Wu M, Xie C, Ren L. The changes of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in plasma and its expression in adipose tissue in pregnant women with gestational diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2014;104:136-42.
4. D'Anna R, Baviera G, Giordano D, Todarello G, Corrado F, Buemi M. Second trimester neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a potential prediagnostic marker of preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2008;87:1370-3.

5. Edelstam G, L wbeer C, Kral G, Gustafsson SA, Venge P. New reference values for routine blood samples and human neutrophilic lipocalin during third-trimester pregnancy. *Scand J Clin Lab Invest* 2001;61:583–92.
6. D’Anna R, Baviera G, Giordano D, Todarello G, Russo S, Recupero S, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin serum evaluation through normal pregnancy and in pregnancies complicated by preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2010;89:275–8.
7. Karampas G, Eleftheriades M, Panoulis K, Rizou M, Haliassos A, Hassiakos D, et al. Maternal serum levels of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and their complex MMP-9/NGAL in pregnancies with preeclampsia and those with a small for gestational age neonate: a longitudinal study. *Prenat Diagn* 2014;34:726–33.
8.  dum L, Andersen AS, Hviid TV. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) excretion increases in normal pregnancy but not in preeclampsia. *Clin Chem Lab Med* 2014;52:221–5.
9. Malyszko JS, Rams L, Drozdowska-Rams L, Ma yszko J. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of kidney function in pregnancy – useful or doubtful? *Arch Med Sci* 2010;6:744–7.