

Klinika za ginekologiju i akušerstvo\* i Zavod za mikrobiologiju,\*\*  
Univerzitetsko Klinički centar Tuzla, Medicinski fakultet,\*\*\* Tuzla

## PLACENTARNA ALKALNA FOSFATAZA KAO BIOKEMIJSKI BILJEG IDIOPATSKOG PRIJEVREMENOG PORODA

### PLACENTAL ALKALINE PHOSPHATASE AS A BIOCHEMICAL MARKER OF IDIOPATHIC PRETERM DELIVERY

*Gordana Grgić,\* Zlatan Fatušić,\* Nijaz Tihic,\*\* Lejla Begić,\*\*\*  
Gordana Bogdanović,\* Fahrija Skokić\**

*Stručni članak*

*Ključne riječi:* placentna alkalna fosfataza, prijevremeni porod

**SAŽETAK.** Istraživanja pokazuju da je mogući biljeg idiopatskog prijevremenog poroda humana placentarna alkalna fosfataza (hPIAP). **Cilj istraživanja.** Ispitati hPIAP u serumu majke kao biljeg prijevremenog poroda u trudnica koje nemaju ni jedan od poznatih rizika nastanka prijevremenog poroda, odrediti kritičnu vrijednost hPIAP u trudnoćama koje su završene prijevremenim porodom, utvrditi postoji li povezanost između vrijednosti hPIAP i rođenja novorođenčadi niske tjelesne težine. **Ispitanice i metode.** Ispitivanje je rađeno kao prospektivna studija na ukupno 150 trudnica. Svim trudnicama od 20. do 24. gestacijskog tjedna iz seruma je određena vrijednost hPIAP. U daljnjem tijeku trudnoće praćeno je da li prijevremeni porod nastaje češće u trudnica s povećanim vrijednostima hPIAP u odnosu na trudnice koje su imale normalne vrijednosti. Kao kritična vrijednost za hPIAP uzeta je vrijednost viša od dvije medijane vrijednosti (>2M). **Rezultati.** Prijevremenih poroda bilo je 17 (11,3%). Srednja vrijednost hPIAP u cijeloj ispitivanoj grupi iznosila je 608,28. Srednja vrijednost hPIAP trudnica koje su rodile prijevremeno iznosila je 1195, a trudnica porođenih na vrijeme 632,16. Vrijednost hPIAP >2M imalo je 29 trudnica porođenih prijevremeno (19,34%). **Zaključak.** hPIAP se može koristiti kao pouzdan biljeg idiopatskog prijevremenog poroda u trudnica koje nemaju ni jedan od poznatih rizika nastanka prijevremenog poroda. Granična vrijednost hPIAP koja je povezana s nastankom idiopatskog prijevremenog poroda je 990mU/l. Postoji povezanost između vrijednosti hPIAP i rođenja novorođenčadi niske tjelesne težine.

*Professional paper*

*Key words:* preterm labour, placental alkaline phosphatase

**SUMMARY.** Different researches pointed out that human placental alkaline phosphatase (hPIAP) can be used as a possible marker of idiopathic premature labour. **Objective.** To examine reliability of hPIAP in mothers serum as a marker of premature labour among pregnant women who had no any of known risks for premature labour and to determine critical value of hPIAP in pregnancies which terminated as a premature labour; to establish the relation between hPIAP and newborns of low birth weight. **Material and methods.** The research is done in a form of prospective study of 150 pregnant women, who have had no known risks factors for premature labour and who have had adequate antenatal care. The value of hPIAP in serum of all pregnant women were determined in period from 20 to 24 weeks of pregnancy. In further course of pregnancy was evaluated does the premature labour occur more frequently in those with increased values of hPIAP in relation to women who had normal values. As a critical for hPIAP was taken the value over two medians (>2M). **Results.** The number of premature labours was 17 (11.3%). Mean value of hPIAP in pregnant women who delivered prematurely was 1195, while in those who gave birth on time 632.16. The difference is statistically significant ( $p < 0.0001$ ). Value of hPIAP >2M had 29 (19.34%) of women who gave birth prematurely. **Conclusion.** hPIAP can be used as a reliable marker of idiopathic premature labour in pregnant women who have no risk factor for premature labour. hPIAP values which is related to development of premature labour is 990 mU/l.

## Uvod

Prema definiciji Svjetske zdravstvene organizacije i Američke pedijatrijske akademije, svaki porod, neovisno o porodnoj težini koji uslijedi prije navršenih 37 gestacijskih tjedana je prijevremeni.<sup>1</sup> Rana identifikacija trudnica s visokim rizikom za nastanak prijevremenog poroda najbolji je put za njegovu efektivnu prevenciju. Metode identifikacije rizičnih trudnica uključuju kliničke i biokemijske biljege prijevremenog poroda. Klinički relevantne metode su: promjene cerviksa koje se otkrivaju redovitim vaginalnim pregledima ili ultrasonografijom, praćenje kontrakcije maternice, vaginalno krvarenje i identifikacija epidemioloških faktora rizika.<sup>2</sup>

Biljezi u serumu majke koji upućuju na povećani rizik prijevremenog poroda su: feritin, C-reaktivni protein, onkofetalni fibronektin, interleukin IL-1 $\beta$ , IL-2 R, IL-6, tumorski faktor nekroze (tumor necrosis factor, alpha TNF- $\alpha$ ), AFP (alfa fetoprotein), slobodni  $\beta$ -HCG, CRH (kortikotropin releasing hormon), alkalna fosfataza, grupa II fosfolipaze A, koncentracija nitrita i nitrata. Biljezi na vratu maternice su: cervikalni feritin, fetalni fibronektin i inzulinu sličan faktor rasta (ILGF-binding protein-1). Biljezi u amnionskoj tekućini su: povećanje koncentracije interleukina IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ . Nivo ovih supstanci je povećan i kod korioamnionitisa koji je udružen s intraamnijskom infekcijom. Dužina cerviksa

mjerena sonografski može pomoći kao skrining za otkrivanje žena s rizikom nastanka prijevremenog poroda.<sup>3</sup>

### Placentarna alkalna fosftaza

Placentarna alkalna fosfatasa je izoenzim koji se stvara i luči u posteljici. Razlikuje se od drugih alkalnih fosfatasa po tome što je stabilna na temperaturi od 56 stupnjeva na zagrijavanje od 30 minuta. Molekularna težina iznosi oko 116 000–200 000 daltona. Opće funkcije alkalnih fosftaza povezane su s aktivnim transportom na nivou stanične membrane.<sup>4</sup> Humana placentarna alkalna fosfatasa (hPIAP) lokalizirana je u apikalnim i bazalnim stanicama membrane sinciciotrofoblasta i na površini citotrofoblasta korionskih resica. Humana termostabilna placentarna alkalna fosfatasa je sialoglikoprotein, u kome se nalazi glikozil fosfoinozitol, sastavljen od dvije identične subjedinice. Visoki nivo ovog enzima je u placentarnom trofoblastu, a u tragu se nalazi u plućima, endocervisku i jajovodima. U placenti se počinje stvarati oko sedmog tjedna trudnoće.<sup>5</sup>

Trudnice s povećanim nivoom placentarne alkalne fosftaze u srednjem tromjesečju imaju povećan rizik za prijevremeni porod.<sup>6</sup> Biološki mehanizmi u ovom procesu su nejasni. Nekroza, ruptura i druga oštećenja korionskih resica, infarkcije ili ablacija placente mogu povećati nivo placentarne alkalne fosftaze u serumu majke.<sup>7</sup> Povećani nivo serumske placentarne alkalne fosftaze nađen je u prijevremeno porođenih trudnica i pokazatelj je poremećaja integriteta fetalnih membrana.<sup>8</sup>

### Cilj rada

Cilj rada bio je sljedeći:

1. Istražiti pouzdanost placentarne alkalne fosftaze (hPIAP) u serumu majke kao biljega prijevremenog poroda u trudnica koje nemaju nijedan od poznatih rizika prijevremenog poroda.
2. U trudnoćama koje su završene prijevremenim porodom odrediti graničnu vrijednost humane placentarne alkalne fosftaze koja pretkazuje nastanak prijevremenog poroda.
3. Utvrditi postoji li povezanost između vrijednosti hPIAP i rađanja novorođenčadi niske tjelesne težine (<2500 grama).

### Ispitanice i metode

Istraživanje je provedeno kao prospektivna studija na ukupno 150 trudnica. U istraživanje su uključene trudnice starosne dobi od 18 do 35 godina u kojih nisu bili prisutni poznati rizični faktori za nastanak prijevremenog poroda, kao što su prema Avramoviću:<sup>9</sup> Infertilitet u anamnezi; raniji namjerni i spontani pobačaji i prijevremeni porodi; ranije perinatalne smrti, rađanje djece niske težine i ranije fetalne malformacije; bolesti majke; lokalni uzroci (anomalijske uterusa, genitalna infekcija); fetalni uzroci (multiple trudnoće, malformacije fetusa,

retardacija rasta ploda, fetalna smrt); placentarni uzroci (ablacija placente, placenta previja, placentarna insuficijencija); korio-amnialni uzroci (prijevremeno prsnuće plodovih ovoja, korioamnionitis).

U istraživanje su uključene samo redovito ambulantno kontrolirane trudnice. Budući da je provedeno od 20. do 24. tjedna trudnoće, sve trudnice su do uzimanja krvi imale najmanje četiri pregleda u trudnoći. Točna gestacijska dob određena je prema zadnjoj menstruaciji i ultrazvučnoj biometriji u prvom tromjesečju te potvrđena ultrazvučnim pregledom od 16. do 20. tjedna, a odstupanja nisu veća od 7 dana. Istraživanje je vršeno uz dozvolu Etičkog komiteta, a tražen je i pristanak od svake trudnice za uzimanje uzorka.

Svim ispitanicama je od 20. do 24. tjedna trudnoće iz seruma određena placentarna alkalna fosfatasa. U daljem tijeku trudnoće praćena je pojava prijevremenog poroda, tj. poroda živog novorođenčeta prije navršena 37. tjedna (259. dana gestacije), računajući od prvog dana zadnje menstruacije.

Određivanje fosftaze u serumu majke vršeno je u Zavodu za mikrobiologiju Univerzitetskog kliničkog centra u Tuzli. Serumska placentarna alkalna fosfatasa je određivana metodom ELISA, upotrebom monoklonalnih antitijela pomoću testa INNOTEST hPLAP (Innogenetics, Belgija). Kao kritična vrijednost uzeta je vrijednost >2M (vrijednost veća od dvije vrijednosti medijane). Vrijednost je izražena u mU/L.

U obradi dobivenih vrijednosti korištene su metode deskriptivne statistike: računanje srednje vrijednosti, standardne devijacije i medijana. Rezultati dobiveni u uzorku i kontrolnoj grupi uspoređeni su  $\chi^2$  testom, studentovim t-testom, Mann-Whitneyevim i Fisherovim testom.

### Rezultati

Ukupno je istraživano 150 trudnica. Prijevremeno je rodilo 17 (11,3%), a broj poroda u terminu bio je 133 (88,66%).

*Tablica 1.* prikazuje prosječnu vrijednost humane placentarne alkalne fosftaze (hPIAP) u cijeloj ispitivanoj grupi. Srednja vrijednost hPIAP bila je 608,28mU/L, sa standardnom devijacijom 377,80 i medijanom vrijednosti 460.

U *tablici 2.* prikazana je prosječna vrijednost hPIAP u trudnica koje su kasnije rodile pretermijski i terminski. Srednja vrijednost hPIAP kod prijevremeno završenih poroda iznosila je 1195 mU/L, sa standardnom devijacijom 240 i medijanom 1295. U grupi terminskih poroda

*Tablica 1.* Prosječna vrijednost placentarne alkalne fosftaze u cijeloj ispitivanoj grupi

*Table 1.* Mean value of placental alkaline phosphatase in total examined group

Srednja vrijednost – Mean value ( $\bar{X}$ )	608,28
Standardna devijacija – Standard deviation (SD)	377,80
Medijana vrijednost – Median value (Med)	460

Tablica 2. Prosječna vrijednost hPIAP kod pretermijskih i terminskih poroda

Table 2. Mean value of hPIAP in pre-term and term births

	Pretermijski porodi Pre-term births	Terminski porodi Term births
Srednja vrijednost Mean value ( $\bar{X}$ )	1195	632,16
Standardna devijacija Standard deviation (SD)	240	383
Medijana vrijednost Median value (Med)	1295	495

Tablica 3. Pretkazljivost koncentracije humane placentarne alkalne fosfataze za prijevremeni porod

Table 3. Predictability of human placental alkaline phosphatase for pre-term birth

Vrijednosti placentarne alkalne fosfataze Value of placental alkaline phosphatase	Pretermijski porod Pre-term birth	Terminski porod Term birth
<2 M (<990)	5 (3,33%)	116 (73,33%)
>2 M (>990)	12 (8,00%)	17 (11,33%)

Tablica 4. Odnos između vrijednosti hPIAP i niske tjelesne težine novorođenčadi

Table 4. Relation of the values of hPIAP to newborns birth weight

Tjelesna težina (grami) Birth-weight (grams)	Placentarna fosfataza Placental phosphatase	
	<2 M	>2 M
<2499	5 (3,33%)	6 (4%)
>2500	116 (77,33%)	23 (15,34%)
Ukupno – Total	121 (80,66%)	29 (19,34%)

prosječna vrijednost hPIAP iznosila je 632,16 mU/L, sa standardnom devijacijom 383 i medijanom 495. Srednje vrijednosti testirane su t-testom. Pokazano je da postoji statistički visoko značajna razlika između srednjih vrijednosti hPIAP poroda završenih prijevremeno i terminskih poroda ( $t=8,21$ ;  $df=199$ ;  $p<0,0001$ ). Primjena neparametrijskog Mann-Whitneyevog testa vodi istom zaključku.

Slijedeći rad Meyera i sur.<sup>11</sup> izračunate su vrijednosti medijana za koncentracije humane placentarne alkalne fosfataze kod pretermijskih i terminskih poroda. U cijelom našem uzorku je medijana vrijednost 495 mU/L, a dvije medijane vrijednosti za terminski porod su 990 mU/L. Vrijednost veću od dvije medijane vrijednosti u slučaju pretermijskog poroda imalo je po 12 trudnica odnosno 80%. Vrijednost manju od dvije medijane vrijednosti nalazimo u slučaju prijevremenog poroda u 5 (3,33%) slučajeva, a u slučaju terminskog poroda u 116 (77,33%) slučajeva.

$\chi^2$  testom dokazano je da postoji povezanost pojave pretermijskog poroda s koncentracijom hPIAP ( $\chi^2=43,8$ ;  $p=0,0001$ ), odnosno da razlika frekvencija visokih vrijednosti hPIAP nije slučajna u grupama pretermijskog i terminskog poroda. Do istog zaključka se došlo i pri-

mjenom Fisherovog egzaktnog testa. Računajući odnos šansi (odds ratio) za pojavu pretermijskog u odnosu na terminski porod, dobiveno je da je izgled za nastanak pretermijskog poroda 12,2 puta veća kod povećanih vrijednosti hPIAP (95%, CI=5,1–30,0).

Tablica 4. pokazuje povezanost između vrijednosti placentarne alkalne fosfataze i rođenja novorođenčadi niske težine. Vrijednost >2M nađena je u 29 (19,34%) trudnica, a novorođenčadi niske tjelesne mase bilo je 6 (4%).  $\chi^2$  testom pokazano je da su koncentracije hPIAP >2M i niska tjelesna masa novorođenčadi povezane ( $\chi^2=7,16$ ,  $p=0,0075$ ). Do istog se zaključka dolazi primjenom egzaktnog Fisherovog testa ( $p=0,0073$ ). Šansa rođenja novorođenčeta niske tjelesne mase 6,1 puta je veća (95%, CI=1,38–26,91) ako je koncentracija hPIAP >2M.

Izračunata je senzitivnost i specifičnost testa. Senzitivnost je 71,8%, a specifičnost 82,7%. Visoka specifičnost testa znači da će pacijentice s visokom vrijednošću hPIAP s velikom vjerojatnošću roditi prije termina. Logističkom regresionom analizom izračunato je da se izgled za prijevremeni porod povećava 7,6 puta ako je vrijednost hPIAP povećana (95%, CI=3,06–18,74).

## Rasprava

Termo stabilna hPIAP kod normalnih trudnica pokazatelj je funkcije posteljice, a indirektno i stanja ploda. Povećanjem trudnoće statistički značajno raste vrijednost hPIAP. Postoje i individualne varijabilnosti hPIAP u istoj gestacijskoj dobi različitih trudnica. Nađeno je da je srednja vrijednost hPIAP bila 1280 mU/L u prvih osam tjedana trudnoće, a povećanjem gestacijske dobi zabilježena je vrijednost od 1540 mU/L.<sup>10</sup>

U krvi trudnica od 20. do 24. tjedna određivana je vrijednost hPIAP kao potencijalnog biokemijskog biljega idiopatskog prijevremenog poroda. Zadana kritična vrijednost bila je >2M (veća od dvije vrijednosti medijana). Najmanja vrijednost u ispitivanoj grupi iznosila je 150 mU/L, a najveća vrijednost bila je 1375 mU/L.

Prema Meyeru<sup>11</sup> i našem istraživanju kao visoka vrijednost hPIAP je uzimana vrijednost koja je veća od dvostruke medijane vrijednosti (vrijednost medijana  $495 \times 2 = 990$ ). Srednja vrijednost hPIAP iznosila je 608,28 mU/L. U grupi pretermijskih poroda srednja vrijednost je iznosila 1195,00 mU/L, a u grupi terminskih poroda 632,16 mU/L. T-testom nađena je statistički značajna razlika u vrijednosti hPIAP između pretermijskih i terminskih poroda. U ispitivanoj grupi vrijednosti hPIAP >2M nađene su u 29 trudnica (100%), 12 je rodilo prije vremena, a 17 na vrijeme. Šansa za nastanak pretermijskog poroda, ako je vrijednost hPIAP >2M, 12,2 puta je veća u odnosu na terminski porod. U provedenom istraživanju 29 trudnica odnosno 19,34% imalo je vrijednosti >2M u odnosu na istraživanje Meyera i sur.<sup>11</sup>, kod kojih je 33% žena imalo vrijednosti >2M. Po istraživanju Meyera i sur. šansa za nastanak pretermijskog poroda je

2,9 puta veća u odnosu na termiski porod, ako je vrijednost hPIAP povećana.

Računajući valjanost hPIAP kao dijagnostičkog testa dobiveno je da je njegova senzitivnost 71,8%, a specifičnost 82,7%. Visoka specifičnost znači da će pacijentice s visokom vrijednošću hPIAP s velikom vjerojatnošću roditi prije vremena. Izgled za nastanak prijevremenog poroda povećava se povećanjem nivoa placentne alkalne fosfatase.

U provedenom istraživanju je pokazano da postoji povezanost između vrijednosti hPIAP >2M i rođenja novorođenčadi niske tjelesne mase. Izgled za rođenje novorođenčadi niske porodne težine 6,1 puta je veća, ako je vrijednost hPIAP >2M. Travers i Bodner<sup>12</sup> su prvi uočili povezanost povećanog nivoa serumske termostabilne alkalne fosfatase i niske porodne težine.

## Zaključak

1. Humana placentarna alkalna fosfatasa (hPIAP) je pouzdan biljeg idiopatskog prijevremenog poroda u trudnica koje nemaju ni jedan od poznatih rizika nastanka prijevremenog poroda.
2. Granična vrijednost hPIAP koja je povezana sa nastankom idiopatskog prijevremenog poroda je 990 mU/L.
3. Postoji povezanost između vrijednosti hPIAP i rođenja novorođenčadi niske težine.

## Literatura

1. Škrablin S. Prijevremeni porod – što je to? Poslijediplomski tečaj stalnog medicinskog usavršavanja I kategorije, Zagreb, 2003;1–17.

2. Bittar RE, Yamasaki AA, Sasaki S, Zugaib M. Cervical fetal fibronectin in patients at increased risk for preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:178–81.

3. Alonso JG, Grazia R, Rosana S. Progress in preterm delivery prevention: genetic markers. *J Perinatal Med* 2003;31:100.

4. Bila S. Hormonsko-sekretorna funkcija posteljice. U: Davidović D, Garić B. *Opstetricija*. Beograd: Novinsko-izdavačka ustanova 1996;147–63.

5. Leitner K, Szlauer R, Ellinger I, Ellinger A, Zimmer KP, Fuchs R. Placental alkaline phosphatase expression at the apical and basal plasma membrane in term villous trophoblasts. *J Histochem Cytochem* 2001;49:1155–64.

6. Best RG, Meyer RE, Schipley CF. Maternal serum alkaline phosphatase as a marker for low birth weight: results of pilot study. *South Med J* 1991;84:740–2.

7. Laros RK. Fertilization, development, physiology and disorders of the fetal development. In: Wilson JR, Carrington ER (eds.). *Obstetrics and Gynecology*. St. Louis: Mosby Year Book 1991;142–71.

8. Davis RO, Goldenberg RL, Boots L. Elevated levels of midtrimester maternal serum alpha-fetoprotein are associated with preterm delivery but not with fetal growth retardation. *Am J Obstet Gynecol* 1992;167:596–601.

9. Avramović D. Prevrmeni porođaj – Pretermiski porođaj. U: Davidović D, Garić B. *Opstetricija*. Beograd: Novinsko izdavačka ustanova 1996;616–56.

10. Onwuameze IC, Onwubere BJ, Ezeoke AC. Serum heat-stable alkaline phosphatase activity in normal pregnancy. *East Afr Med J* 1999;76(6):341–3.

11. Meyer RE, Shirley JT, Addy CL, Garrison RG. Maternal serum placental alkaline phosphatase level and risk for preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:181–6.

12. Travers P, Bodmer W. Preparation and characterization of monoclonal antibodies against placental alkaline phosphatase and other human trophoblast-associated determinants. *Int J Cancer* 1984;33:633–41.

Članak primljen: 24. 04. 2006.; prihvaćen: 26. 07. 2006.

Adresa autora: Dr. sci. Gordana Grgić, Klinika za ginekologiju i akušerstvo, Univerzitetsko klinički centar Tuzla, Stupine B7/VI/17, 75 000 Tuzla, BiH, E-mail: grgic.j@bih.net.ba