

# Utjecaj količine dnevnog unosa kuhinjske soli na serumsku koncentraciju 8-izo-prostaglandina F2alfa u populaciji zdravih trudnica u trećem trimestru trudnoće

---

Jurčić, Mateja

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:152:179940>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-19**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**

**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ MEDICINSKO**

**LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA**

**Mateja Jurčić**

**UTJECAJ KOLIČINE DNEVNOG  
UNOSA KUHINJSKE SOLI NA  
SERUMSKU KONCENTRACIJU 8-IZO-  
PROSTAGLANDINA F<sub>2α</sub> U POPULACIJI  
ZDRAVIH TRUDNICA U TREĆEM  
TRIMESTRU TRUDNOĆE**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2023.**

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**

**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ MEDICINSKO**

**LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA**

**Mateja Jurčić**

**UTJECAJ KOLIČINE DNEVNOG  
UNOSA KUHINJSKE SOLI NA  
SERUMSKU KONCENTRACIJU 8-IZO-  
PROSTAGLANDINA F<sub>2α</sub> U POPULACIJI  
ZDRAVIH TRUDNICA U TREĆEM  
TRIMESTRU TRUDNOĆE**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2023.**

Rad je ostvaren u: Medicinski fakultet Osijek

Mentor rada: Ana Stupin, izv. prof. dr. sc.

Neposredni voditelj: Petar Šušnjara, asistent

Rad ima 25 listova, 2 tablice i 3 slike

## *Zahvala*

*Srdačno se zahvaljujem izv. prof. dr. sc. Ani Stupin na predanom mentorstvu i prikazanom strpljenju, a posebice na dostupnosti za savjete i kritike.*

*Zahvaljujem se Katedri za fiziologiju i imunologiju Medicinskog fakulteta u Osijeku i Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Osijek na susretljivosti i suradnji tijekom istraživanja. Posebno hvala asistentu Petru Šušnjari na pomoći i strpljenju tijekom eksperimentalnog dijela izrade rada.*

*Hvala mojim prijateljima i partneru na svim riječima motivacije i ohrabrenja, te beskrajnom razumijevanju.*

*Najveće hvala mojoj obitelji koja me podržavala i motivirala kroz cijeli moj obrazovni put na svemu što su učinili za mene.*

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1. Oksidativni stres .....	1
1.2. Biljezi oksidativnog stresa.....	3
1.3. 8-izo-prostaglandin F2 $\alpha$ .....	4
1.4. Utjecaj unosa soli na oksidativni stres.....	5
1.5. Oksidativni stres u trudnoći.....	6
2. HIPOTEZA .....	9
3. CILJEVI .....	10
4. MATERIJALI I METODE .....	11
4.1. Ustroj studije.....	11
4.2. Ispitanici .....	11
4.3 Metode .....	11
4.4 Statističke metode.....	13
5. REZULTATI.....	14
6. RASPRAVA.....	17
7. ZAKLJUČAK .....	19
8. SAŽETAK.....	20
9. SUMMARY .....	21
10. LITERATURA.....	22
11. ŽIVOTOPIS .....	25

## POPIS KRATICA

8-izo-PGF2 $\alpha$	8-izo-prostaglandin F2 $\alpha$
ATP	adenozin-5-trifosfat
CAT	enzim katalaza
ELISA	enzimski povezani imunosorbentni test od engl. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
GPx	glutation peroksidaza
GSH	glutation
GSH-Px	plazma glutation peroksidaza
GST	glutation S transferaze
HRP	peroksidaza hrena
HS	visok unos soli od engl. <i>high salt</i>
IsoPs	izoprostani
ITM	indeks tjelesne mase
KVB	kardiovaskularne bolesti
MDA	malondialdehid
MPO	mijeloperoksidaza
NADPH	nikotinamid adenin dinukleotid fosfat
Nrf-2	nuklearni faktor 2 povezan s eritroidom
NS	normalan unos soli od engl. <i>normal salt</i>
OxLDL	lipoprotein niske gustoće
PGHS	prostaglandin-endoperoksid sintaze
PRX	peroksiredoksin
RNS	reaktivne vrste dušika
ROS	reaktivne vrste kisika od engl. <i>reactive oxygen species</i>
SOD	superoksid dismutaze
SZO	Svjetska zdravstvena organizacija

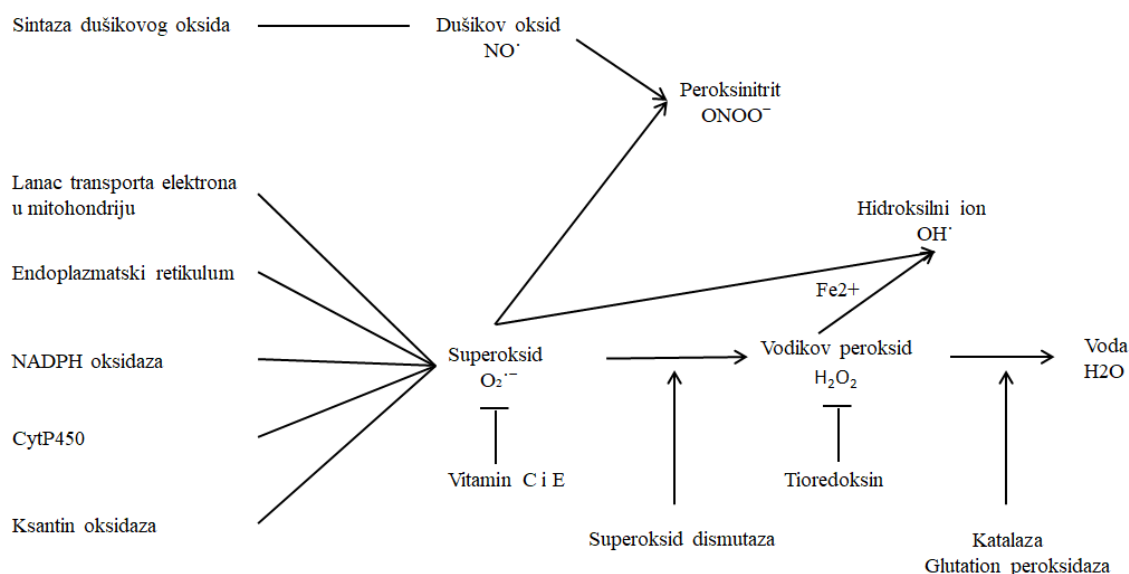
## 1. UVOD

### 1.1. Oksidativni stres

Oksidativni stres definiran je kao poremećaj ravnoteže između proizvodnje reaktivnih vrsta kisika (engl. *reactive oxygen species*, ROS) i antioksidativne obrane, što može dovesti do ozljede tkiva (1). Kisik ima dvojak utjecaj na biološki sustav. Njegova reaktivnost omogućuje mu sudjelovanje u visokoenergetskim prijenosima elektrona, te kroz oksidativnu fosforilaciju sudjeluje u stvaranju velikih količina adenzin-5-trifosfata (ATP). Proces je neophodan za evoluciju složenih višestaničnih organizama, ali ih istovremeno čini podložnima napadima na bilo koju biološku molekulu (3). Stoga je ljudsko tijelo izloženo stalnim oksidativnim napadima ROS-a, a kako bi se ovaj napad neutralizirao i oksidativni status održao u ravnoteži razvio se sustav antioksidativne obrane. Ukoliko dođe do poremećaja ravnoteže dolazi do oksidativnog stresa. Istraživanja pokazuju da oksidativni stres ima središnju ulogu u patofiziologiji različitih poremećaja, kao što su kardiovaskularne bolesti (KVB), ali i komplikacije trudnoće (3). Do poremećaja može doći promjenama s obje strane ravnoteže, kroz abnormalno visoku proizvodnju ROS-a i/ili nedostatnu antioksidativnu obranu. Ovisno o veličini poremećaja ravnoteže dolazi do stupnjevanog odgovora na oksidativni stres. Manji poremećaji dovest će do homeostatskih prilagodbi, dok veći poremećaji mogu dovesti do oštećenja, i konačno smrti stanice. Oksidativni stres rijetko se pojavljuje izolirano. Istraživanjima je potvrđeno da se složene reakcije odvijaju između oksidativnog i drugih oblika staničnog stresa, kao što je stres endoplazmatskog retikuluma (3). ROS se definiraju kao vrste koje sadrže jedan ili više nesparenih elektrona, a nepotpuna elektronska ljuska daje im visoku reaktivnost (3). Nastaju iz mnogih elemenata, ali za biološki sustav najvažniji su oni koji sadrže kisik i dušik (Slika 1.). Najčešći ROS u fiziološkim uvjetima je superoksidni anion ( $O_2^{\cdot-}$ ), a njegov glavni izvor su mitohondriji. Drugi izvori su nikotinamid adenin dinukleoid fosfat (NADPH) oksidaza, citokrom P450 i druge oksidoreduktaze. Detoksikacija superoksida odvija se pomoću enzima superoksid dismutaze (SOD) koji ga pretvara u vodikov peroksid ( $H_2O_2$ ).  $H_2O_2$  manje je reaktivan od  $O_2^{\cdot-}$  i nije slobodni radikal, ali smatra se jednim od ROS-ova zbog uključenosti u stvaranje i detoksikaciju slobodnih radikala (3). Napolarna je molekula, ima mogućnost difuzije kroz membrane stanica i organela te djeluje kao drugi glasnik u putovima prijenosa signala, potom se detoksicira u vodu pomoću enzima katalaze (CAT) i glutation peroksidaze (GPx). Ukoliko dođe do neravnoteže u koncentracijama  $O_2^{\cdot-}$  i  $H_2O_2$  može doći do stvaranja opasnijeg hidroksilnog iona (OH $\cdot$ ). Također, prekomjernim stvaranjem superoksida može doći do



interakcije s dušikovim oksidom ( $\text{NO}^\cdot$ ) pri čemu nastaje peroksinitrit ( $\text{ONOO}^-$ ), snažan prooksidans koji može utjecati i na susjedne stanice.



**Slika 1.** Glavni ROS, njihovo potencijalno podrijetlo i putovi detoksikacije. Nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (NADPH) oksidaza, citokrom P450 (CytP450).

Antioksidativna obrana, enzimaska i neenzimska, inhibira napad oksidansa. Nakon formiranja ROS-a enzimski sustavi održavaju njegovu fiziološku razinu. U enzimsku obranu uključeni su SOD, CAT, GPx, peroksiredoksin (PRX) i glutation S transferaze (GST) koji se izravno suprotstavljaju oksidativnom stresu kemijskom redukcijom oksidansa (4).  $\text{O}_2^{\cdot-}$  koji ima više izvora je primarni ROS, pa je njegova dismutacija pomoću SOD-a iznimno važna za svaku stanicu. SOD ima tri oblika, bakar – cink superoksid dismutazu (CuZn-SOD), mangan superoksid dismutazu (Mn-SOD) i ekstracelularnu superoksid dismutazu (EC-SOD). Mn-SOD lokalizirana je u matriksu mitohondrija, a EC-SOD u izvanstaničnom matriksu, posebno u područjima koja sadrže velike količine kolagenih vlakana tipa I i oko plućnih krvnih žila. CuZn-SOD i Mn-SOD zajedno djeluju kao čistači  $\text{O}_2^{\cdot-}$  (4).  $\text{H}_2\text{O}_2$ , koji nastaje djelovanjem SOD ili ksantin oksidaze, reducira se u vodu pomoću CAT i plazma glutation peroksidaze (GSH-Px). CAT veže NADPH kao redukcijski ekvivalent kako bi spriječila oksidativnu inaktivaciju enzima pomoću  $\text{H}_2\text{O}_2$  dok se reducira u vodu. GSH-Px su tetramerni enzimi koji sadrže aminokiselinu selenocistein unutar aktivnih mjesta. Za redukciju  $\text{H}_2\text{O}_2$  i lipidnih

peroksida u odgovarajuće alkohole koriste tiole niske molekularne mase, kao što je glutation (GSH). Zajednička karakteristika ovih antioksidansa je potreba za NADPH kao redukcijskim ekvivalentom (4). GST su obitelj antioksidativnih enzima koji inaktiviraju sekundarne metabolite kao što su aldehidi, epoksidi i hidroperoksidi. Tri glavne obitelji GST-a su citosolni, mitohondrijski i mikrosomalni GST. Neenzimska obrana djeluje pomoću antioksidansa male molekularne mase, kao što su vitamini C i E. Vitamin C ulazi u endotelne stanice gdje donira elektrone raznim radikalima, pri čemu je  $O_2^{\cdot-}$  jedan od najvažnijih (2). Vitamin E djeluje povoljno na oksidativni status smanjujući peroksidaciju lipida, te je glavna obrana oštećenja membrane (2). GSH zastupljen je u svim dijelovima stanice a djelovanjem GSH-Px detoksificira  $H_2O_2$  i lipidne peroksidi. Donacijom protona lipidima membrane štiti membranu od napada lipida, te ima ulogu u pretvorbi vitamina C i E natrag u njihove aktivne oblike (4).

## 1.2. Biljezi oksidativnog stresa

Molekule koje su modificirane interakcijama s ROS-om u svom mikrookruženju klasificiraju se kao biomarkeri oksidativnog stresa i koriste se za njegovo mjerenje (5). Najbolja metoda za mjerenje oksidativnog stresa je otkrivanje promjena u razinama produkata oksidacije endogenih molekula kao što su lipidi, proteini ili DNA (6). Ključna značajka valjanosti biljega je uzročna uloga oksidativne modifikacije na funkciju stanica, organa i sustava (5). Drugi čimbenici koji utječu na njihovu primjenjivost: jednostavnost dobivanja odgovarajućeg biološkog uzorka, stabilnost biomarkera, specifičnost i ponovljivost testa korištenog za mjerenje modifikacije (5). U nastavku teksta opisani su biomarkeri oksidativnog stresa koji se obično koriste za dokazivanje oksidativnog stresa u KVB. Glavni enzim za stvaranje ROS-a je mijeloperoksidaza (MPO). MPO je hemoprotein koji katalizira pretvorbu  $H_2O_2$  u  $\cdot OH$ ,  $ONOO^-$ , hipoklorastu kiselinu ( $HOCl$ ) i  $NO_2$ . ROS nastao iz MPO može modificirati lipide, lipoproteine i proteine (5). Dokazano je da su povišene razine MPO povezane s prisutnošću bolesti koronarnih arterijama, što ga čini važnim biomarkerom oksidativnog stresa za KVB (5). Lipidi su osjetljive mete oksidacije zbog svoje molekularne strukture bogate reaktivnim dvostrukim vezama. Dva najbolje proučena biomarkera peroksidacije lipida su izoprostani (IsoPs) i malondialdehid (MDA). Razine IsoPs su povišene kod ishemije/reperfuzije miokarda i u aterosklerotskim lezijama u odnosu na normalno vaskularno tkivo. On može sudjelovati u patogenezi ateroskleroze kroz učinke na vazokonstrikciju, agregaciju trombocita i proliferaciju vaskularnih glatkih mišićnih stanica (5). MDA je pokazatelj oksidativnog stresa u brojnim KVB, te ima potencijalnu ulogu u

predviđanju progresija KVB i odgovora na terapije (5). Procjenjuje se da proteini mogu očistiti/izbaciti većinu (50 – 75 %) stvorenih reaktivnih vrsta pri čemu visoko reaktivne vrste oštećuju nespecifična mjesta na proteinima, dok manje reaktivne vrste imaju veću selektivnost. Visoka varijabilnost reaktivnih mjesta za posljedicu ima širok spektar posttranslacijskih modifikacija na proteinima čija se kompozicija/struktura te hidrofobna i hidrofilna svojstva mijenjaju zbog promjena u savijanju proteina. Ovaj proces utječe na njihovu funkciju u ulozi receptora, enzima itd. Oksidacija proteina nastaje kao posljedica reakcija između proteinskih aminokiselinskih ostataka i ROS-a ili reaktivnih dušikovih vrsta (RNS), poznato kao oksidativne modifikacije proteina. Oksidativne modifikacije proteina dijele se u dvije kategorije; ireverzibilne i reverzibilne (7). Ireverzibilnim modifikacijama pripadaju proteinski karbonili i protein nitrotirozin, a reverzibilnim modifikacije proteina cisteinom. Još jedan biomarker KVB je oksidirani lipoprotein niske gustoće (OxLDL). Stvaranje OxLDL događa se unutar vaskularnih stijenki gdje ga preuzimaju makrofagi (5). Kao posljedica aktivacije makrofaga sintetiziraju se ROS (8). Koncentracija OxLDL povećava se proporcionalno s težinom bolesti, te se pokazao kao dobar način predviđanja bolesti koronarnih arterija u zdravih muškaraca što nagoviješta njegovu potencijalnu ulogu u predviđanju raznih KVB (5). Također, pokazalo se da razine ROS-a utječu na ekspresiju ključnih gena uključenih u regulaciju staničnog i sistemskog oksidativnog stresa (5). Jedan od primjera je nuklearni faktor 2 povezan s eritroidom 2 (Nrf-2), transkripcijski faktor koji kao odgovor na oksidativni stres pokreće povećano stvaranje brojnih staničnih antioksidativnih enzima (9). Smanjena ekspresija ovih gena može biti rezultat niske razine oksidativnog stresa u sustavu, ili varijacije u individualnoj reakciji organizma, što može dovesti do većih oksidativnih oštećenja stanice što je potencijalno od velikog kliničkog značaja. No, još uvijek je potrebno ispitati koliko pouzdano profiliranje genske ekspresije u stanicama iz čistih/dostupnih bioloških uzoraka (poput uzorka krvi) reflektira ekspresiju gena unutar kardiovaskularnog tkiva (5).

### **1.3. 8-izo-prostaglandin F2 $\alpha$**

Jedni od najčešćih biomarkera koji se koriste za mjerenje oksidativnog stresa su produkti oksidacije arahidonske kiseline, F2-izoprostani, od kojih je najznačajniji 8-izo-prostaglandin F2 $\alpha$  (8-izo-PGF2 $\alpha$ ) korišten u ovom istraživanju (6). Postoje dva mehanizma stvaranja 8-izo-PGF2 $\alpha$ , a to su kemijska peroksidacija lipida i enzimska peroksidacija lipida posredovana prostaglandin-endoperoksid sintazama (PGHS). 8-izo-PGF2 $\alpha$  nastaje kemijskom peroksidacijom lipida inicijacijskim radikalom na maloj molekuli, a supstrat je slobodna

višestruko nezasićena masna kiselina u otopini ili esterificirana masna kiselina u fosfolipide, trigliceride ili kolesterol. Ovaj mehanizam ne rezultira stereo- i regio-selektivnom oksidacijom izvornog lipida (6). U enzimskoj peroksidaciji lipida posredovanom PGHS-om, 8-izo-PGF<sub>2</sub>α nastaje inicijacijskim tirozilnim radikalom smještenim na aktivnom mjestu enzima PGHS. Supstrat je slobodna višestruko nezasićena masna kiselina, prostorno ograničena unutar aktivnog mjesta PGHS-a, te ovaj mehanizam rezultira stereo- i regio-selektivnom oksidacijom (6). 8-izo-PGF<sub>2</sub>α se otpušta u cirkulaciju pomoću fosfolipaza, a potom se može kvantificirati u tkivima, krvi i urinu. Koncentracija 8-izo-PGF<sub>2</sub>α može se mjeriti pomoću plinske kromatografije – masene spektrometrije, tekućinske kromatografije – masene spektrometrije, enzimski povezanog imunosorbentnog testa (engl. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*, ELISA) i radioimunotestova u uzorcima plazme i urina (5). Omjerom 8-izo-PGF<sub>2</sub>α/PGF<sub>2</sub>α točno se određuje izvor 8-izo-PGF<sub>2</sub>α, te daje apsolutnu mjeru oksidativnog stresa. Neovisnost cirkulirajućih razina 8-izo-PGF<sub>2</sub>α o bubrežnoj ili jetrenoj funkciji omogućuje mu da bude pogodan kao izravni pokazatelj produkcije 8-izo-PGF<sub>2</sub>α i oksidativnog stresa (5). Brojne studije na životinjskim i humanom modelu pokazale su da razine 8-izo-PGF<sub>2</sub>α u uzorcima plazme i urina koreliraju s razinom oksidativnog stresa (5).

#### 1.4. Utjecaj unosa soli na oksidativni stres

Pretjerani unos soli u prehrani sve je veći problem u cijelom svijetu, uključujući Hrvatsku. Prema dostupnim podacima iz 2008. godine prosječni dnevni unos soli u Hrvatskoj bio je 11,6 g soli/dan - 13,3 g/dan za muškarce i 10,2 g/dan za žene, što je dvostruko više od preporučenog dnevnog unosa od strane Svjetske zdravstvene organizacije (SZO) (5 g soli/dan). Hrvatski zavod za javno zdravstvo i Ministarstvo zdravlja izradili su Strateški plan za smanjenje prekomjernog unosa kuhinjske soli u RH 2015. – 2019. za 4% svake godine. Podatci iz 2019. godine pokazali su da se dnevni unos soli u Hrvatskoj u posljednjih 12 godina smanjio za 1,6 g soli/dan (1,9 g soli/dan kod muškaraca i 1,0 g soli/dan kod žena), što ukazuje na potrebu nastavka nastojanja da se unos soli u Hrvatskoj približi vrijednostima koje preporučuje SZO (10).

Ranija istraživanja potvrdila su da visoki unos soli (engl. *high salt*, HS) utječe na porast krvnog tlaka zbog kojeg dolazi do razvoja i progresije arterijske hipertenzije i drugih KVB (11). HS prehrana dovodi do niza staničnih i fizioloških promjena koje osim što mogu uzrokovati povećanje arterijskog krvnog tlaka mogu pridonijeti i oštećenju organa i brojne druge štetne učinke neovisne o krvnom tlaku (13). U posljednjih nekoliko desetljeća postalo

je jasno da prekomjerna unos soli ima negativan utjecaj na vaskularnu i endotelnu funkciju, neovisno o vrijednosti krvnog tlaka (11). Jedan od mehanizama koji dovodi do takvih oštećenja je smanjena biodostupnost NO-a te posljedično smanjena o endotelu ovisna dilatacija zbog povećanja razine oksidativnog stresa (11). Studije na eksperimentalnim životinjama jasno su pokazale da povećana razina oksidativnog stresa, kao posljedica HS prehrane, predstavlja ključni mehanizam za razvoj endotelne disfunkcije. Dodatno, pokazalo se da oksidativni disbalans ima ključnu ulogu u oštećenju endotelne mikrovaskularne funkcije izazvanom HS prehranom i kod zdravih pojedinaca. Na primjer, Greaney i sur. izvijestili su da lokalna primjena askorbinske kiseline (vitamin C) ublažava ili poništava oštećenje mikrovaskularne endotelne funkcije uzrokovano 7-dnevnom HS dijetom u normotenzivnih odraslih osoba (14). Barić i sur. pokazali su da je 7-dnevna HS dijeta dovela do smanjenja antioksidativnog kapaciteta i povećanja oksidativnog stresa neovisno o krvnom tlaku kod zdravih pojedinaca, ali također da je poboljšana antioksidativna obrana primjenom vitamina C i vitamina E tijekom HS prehrane poništila te promjene u oksidativnom statusu i spriječila oštećenje periferne mikrovaskularne endotelne funkcije koje je primijećeno s unosom HS (11). No, oštećenja mogu uključivati i druge endotelne vazoaktivne putove, osim NO-a, kao što su putovi posredovani vazodilatatorskim i/ili vazokonstriktorskim metabolitima arahindonske kiseline. Zbog visokog unosa soli kod zdravih osoba dolazi do povećanja peroksidacije lipida i serumske koncentracije 8-izo-PGF $2\alpha$  koji potencijalno doprinose oštećenju mikrovaskularne reaktivnosti i u zdravih pojedinaca (11). Jedan od prvih znakova endotelne disfunkcije je oslabljena mikrovaskularna reaktivnost na različite podražaje, što predstavlja rani i još uvijek reverzibilni patološki događaj u razvoju KVB (11). Također, dokazano je da HS prehrana u zdravih osoba smanjuje i dilataciju posredovanu protokom brahijalne arterije neovisno o promjenama krvnog tlaka (11). Novija istraživanja upućuju da oksidativni stres ima glavnu ulogu u patofiziologiji mnogih različitih zdravstvenih poremećaja, uključujući komplikacije trudnoće (3).

### **1.5. Oksidativni stres u trudnoći**

Za razvoj fetalnih tkiva i organa potrebna je opskrba odgovarajućom količinom hranjivih tvari i kisika, a ROS nastali tijekom trudnoće utječu na replikaciju, diferencijaciju i sazrijevanje stanica u razvoju. Zbog brojnih anatomskih, fizioloških i metaboličkih promjena, osobito u drugoj polovici trudnoće, dolazi do povećane proizvodnje ROS-a (15). NADPH stvara značajnu količinu O $_2^{\cdot-}$  aniona tijekom trudnoće, osobito u ranoj trudnoći. Uzrok tome je povećani bazalni metabolizam, povećana potrošnja kisika i korištenje masnih kiselina kao

primarnog izvora energije. U posljednjem tromjesečju povećava se inzulinska rezistencija, katabolizam masti i oslobađanje masnih kiselina, te kao posljedica ovih procesa povećana je proizvodnja  $H_2O_2$  (15). Posteljica, koja sadrži veliki broj mitohondrija, jedan je od glavnih izvora proooksigenata, te razvojem trudnoće, odnosno povećanjem mase posteljice, raste i proizvodnja ROS-a,  $H_2O_2$ ,  $OH^-$  i  $NO^\cdot$ . Brojna istraživanja dokazuju da oksidativni stres može imati štetan utjecaj na trudnoću, zdravlje trudnice i razvoj fetusa (15). Oksidativni stres može uzrokovati nepravilnu implantaciju embrija, spontani pobačaj, prijevremeni porod, nisku porođajnu masu fetusa, hipertenzivne poremećaje u trudnoći poput preeklampsije, te razne malformacije (15). Do ovih poremećaja najčešće dolazi zbog nedovoljne opskrbe fetusa hranjivim tvarima i kisikom zbog hipoplazije i abnormalne funkcije posteljice. Pietryga M. i suradnici otkrili su u serumu trudnica koje su imale visok rizik od fetalnih malformacija povišene razine biljega oksidativnog stresa tijekom prvog prenatalnog pregleda u 11. – 14. tjednu gestacije (16). Također, potvrdili su značajnu razliku razine oksidativnog stresa kod pacijentica sa zdravim i bolesnim fetusima (16). Kako bi se posteljica pravilno razvijala nužan je uravnotežen metabolizam kisika, a relativno nizak tlak kisika u korionu sprečava prekomjernu proizvodnju ROS-a, štiti embrio i fetus od štetnih i teratogenih učinaka ROS-a. Ukoliko dođe do značajnog povećanja oksidativnog stresa i smanjenja antioksidativne obrane može doći do spontanog pobačaja (15). U usporedbi s normalnim razvojem trudnoće, kod pacijentica koje su imale spontani pobačaj u prvom tromjesečju uočene su povišene razine biljega oksidativnog stresa u placenti, povećana apoptoza i smanjena proliferacija trofoblasta, te smanjena ekspresija gena odgovornih za mitohondrijsku funkciju u placenti (15). Trudnoće komplicirane preeklampsijom imaju veću razinu oksidativnog stresa u odnosu na normalne trudnoće. Preeklampsija je višesistemski poremećaj karakteriziran pojavom hipertenzije i proteinurije koji nastaje u periodu od 20. tjedna trudnoće do mjesec dana nakon poroda (17). Smatra se da je preeklampsija povezana s abnormalnom placentacijom i jakim upalnim vaskularnim odgovorom majke uzrokovana upravo disfunkcijom vaskularnog endotela (18). U normalnim trudnoćama fetalni citrofoblasti pospješuju širenje vaskularne mreže napadom na spiralne arteriole majke. Ukoliko je trofoblastični napad abnormalan dolazi do promjene u vaskularnom preoblikovanju i ishemiji placente koja posljedično dovodi do preeklampsije. Brojna istraživanja potvrdila su utjecaj oksidativnog stresa na razvoj bolesti posteljice (18). Uočene su povećane razine mitohondrijskih proteina, markera peroksidacije lipida i aktivnosti ksantin oksidaze u uzorcima placente iz preeklamptičnih trudnoća u odnosu na normalne trudnoće (18). U lumenu placentarnog ER-a sintetiziraju se i oblikuju proteini, a poremećajem normalnih homeostatskih uvjeta, kao što je oksidativni stres izazvan hipoksijom, dovodi do

porasta luminalnih pogrešno savijenih proteina, što može dovesti do stanične apoptoze (18). Ovaj put apoptoze, kao i oštećenja u membranskim lipidima, proteinima te jezgrine i mitohondrijske DNA može doprinijeti ograničenju rasta fetusa i pospješiti preeklampsiju kod majke. U normalnoj trudnoći kako bi se održala hemodinamička ravnoteža sudjeluju brojni cirkulirajući čimbenici kao što su vazodilatacijski prostaglandini (PGI<sub>2</sub> i PGE), dok u preeklampničnim trudnoćama prevladavaju vazokonstriksijski prostaglandini (tromboksan A<sub>2</sub> i PGF<sub>2</sub> $\alpha$ ) koji su pouzdani markeri oksidativnog stresa (18).

## **2. HIPOTEZA**

Zdrave trudnice u trećem tromjesečju trudnoće koje unose više od 7,5 grama kuhinjske soli dnevno imaju povišenu razinu oksidativnog stresa u usporedbi sa zdravim trudnicama koje unose manje od 7,5 grama kuhinjske soli dnevno.



### 3. CILJEVI

Cilj ovog istraživanja je istražiti imaju li zdrave trudnice u trećem tromjesečju trudnoće koje unose više od 7,5 grama soli veću razinu oksidativnog stresa u usporedbi sa zdravim trudnicama koje unose manje od 7,5 grama soli dnevno.

### 4. MATERIJALI I METODE

#### 4.1. Ustroj studije

Istraživanje je ustrojeno kao presječna opservacijska studija (cross-sectional study) u kojoj se svim ispitanicima uzimanje podataka, uzorkovanje i mjerenje vršilo u jednoj vremenskoj točki.

#### 4.2. Ispitanici

Ispitanice uključene u ovo istraživanje su zdrave trudnice u razdoblju između 37. i 40. tjedna gestacije. U istraživanju je ukupno sudjelovala 61 zdrava trudnica; 31 ispitanica u skupini s normalnim unosom soli (engl. *normal salt*, NS) i 30 ispitanica u HS skupini. Prilikom prvog posjeta opstetičaru/ginekologu na Klinici za ginekologiju i opstetriciju Kliničkog bolničkog centra Osijek ispitanice su regrutirane i detaljno informirane o protokolu, postupcima i intervencijama koje ovo istraživanje uključuje, te su sve potpisale informirani pristanak za sudjelovanje u istraživanju. Isključni kriteriji za sudjelovanje u ovom istraživanju su pušenje, hipertenzija, trombofilija, korištenje niskomolekularnog heparina, koronarna bolest srca, bubrežna bolest, dijabetes, bolesti perifernih arterija, kronična vaskularna bolest te sve ostale bolesti koje utječu na vaskularnu i endotelnu funkciju nastale prije začeća i tijekom trudnoće. Tijekom regrutacije, ispitanice su dobile detaljne upute za prikupljanje 24-satnog urina, te je tijekom idućeg posjeta opstetičaru/ginekologu uzet uzorak prikupljenog 24-satnog urina i uzorak venske krvi. Istraživanje je odobreno od strane Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta u Osijeku (KLASA: 602-04/23-08/03; URBROJ: 2158-61-46-23-101).

#### 4.3 Metode

Svim trudnicama izmjerena je tjelesna visina i masa, te je na temelju podataka iz trudničke knjižice određen indeks tjelesne mase (ITM) prije trudnoće kao i prirast tjelesne mase u trudnoći.

Analiza uzoraka 24-satnog urina provedena je u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Osijek. Određivanje cjelovitosti prikupljanja 24-satnog urina se izvodilo u automatskom programu u laboratoriju koji računa koeficijent kreatinina prema zadanoj formuli iz vrijednost kreatinina u urinu, tjelesne mase i volumena 24-satnog urina. U uzorcima 24-satnog urina izmjeren je klirens kreatinina te koncentracija natrija, kalija i ureje. Dnevni unosa kuhinjske soli u gramima (g) izračunat je iz podatka o

molarnom izlučivanje natrija u uzorcima 24-satnog urina pomoću odgovarajuće formule [1-g salt (NaCl) = 393.4 mg Na = 17.1 mmol Na]. Ispitanice su podijeljene u dvije skupine, ovisno o procijenjenom dnevnom unosu soli na temelju 24-satne natrijуреze, i to na skupinu onih trudnica čiji je dnevni unos kuhinjske soli manji ili jednak 7,5 g soli dnevno (NS skupina), i skupinu čiji je dnevni unos kuhinjske soli veći od 7,5 g (HS skupina).

Određivanje serumske koncentracije biljega oksidativnog stresa 8-izo-PGF2 $\alpha$  provedeno je u Laboratoriju za molekularnu i kliničku imunologiju Katedre za fiziologiju i imunologiju Medicinskog fakulteta Osijek. Za određivanje serumske koncentracije 8-izo-PGF2 $\alpha$  korišten je komercijalno dostupni ELISA kit (MyBioSource, MBS700957, San Diego, CA, USA). ELISA je enzimski povezani imunosorbentni test koji za detekciju 8-izo-PGF2 $\alpha$  koristi tehniku kompetitivne inhibicije enzima. ELISA ima visoku osjetljivost i specifičnost detekcije 8-izo-PGF2 $\alpha$ ; koncentracijsko područje ove metode je 125 pg/ml-5000 pg/ml, a koeficijent varijacije unutar i između testova je manji od 15 %. U ovom istraživanju određena je serumska koncentracija 8-izo-PGF2 $\alpha$ . Uzorkovana venska krv ispitanika centrifugirana je 10 minuta na 3600 RPMI. Serum je bio pohranjen na - 80°C do izvođenja pokusa. Priprema reagensa radila se s destiliranom vodom u graduiranim spremnicima neposredno prije izvođenja ELISA na sobnoj temperaturi. Prvi reagens je peroksidaza hrena (HRP) konjugirana s 8-izo-PGF2 $\alpha$  u omjeru 1:10. Drugi reagens je otopina za ispiranje (1x), koju je bilo potrebno razrijediti s 15 ml koncentrata (20x) u destiliranoj vodi kako bi se pripremila 300 ml pufera za ispiranje (1x). U ELISA kitu za detekciju 8-izo-PGF2 $\alpha$  nalazi se mikrotitarska ploča koja je prethodno obložena anti-zečjim antitijelima iz kože. U jažice koje su se koristile u pokusu postavila se slijepa proba bez ikakve otopine, dodalo se 50  $\mu$ l standarda ili uzorka po jažici i 50  $\mu$ l otopine HRP-konjugata u svaku jažicu osim u one jažice u kojima se nalazi slijepa proba, potom se dobro promiješalo i inkubiralo jedan sat na 37 °C. Nakon završene inkubacije jažica se aspirirala i ispirala u dva ponovljena puta. Jažica se ispirala tako da se u svaku jažicu dodalo 200  $\mu$ l pufera za ispiranje i ostavilo se 10 sekundi, nakon posljednjeg ispiranja aspirirao se sav preostali pufer. U sljedećem koraku u svaku jažicu je dodano 50  $\mu$ l supstrata A i 50  $\mu$ l supstrata B, koji su dobro izmiješani i inkubirani 15 min na 37 °C. Dodavanjem supstrata došlo je do razvoja boje. Unutar 10 min od posljednjeg koraka određena je optička gustoća svake jažice pomoću čitača mikropločica postavljenog na 450 nm, odnosno mjeren je intenzitet boje koji je proporcionalan koncentraciji 8-izo-PGF2 $\alpha$  u uzorku. Za dobivanje končanog rezultata računao se prosjek dvostrukih očitavanja za svaki standard i uzorak od kojih se oduzimala prosječna optička gustoća slijepog uzorka. Mjerenje intenziteta obojenja,

odnosno apsorbance, mjerila se pomoću spektrofotometra uz korištenje standardne krivulje (PR 3100 TSC Microplate Reader, BioRad Laboratories, Hercules, California). Kalibracijska krivulja se radila iz pet točaka, a intenzitet obojenja je proporcionalan koncentraciji analita u uzorku.

### 4.4 Statističke metode

Svi rezultati su opisani aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom. Normalnost raspodjele varijabli testirana je Shapiro-Wilkovim testom. Razlike normalno raspodijeljenih varijabli mjerenih u dvije skupine ispitanica (NS i HS skupina) uspoređivane su pomoću Studentovog t-testa za nezavisne uzorke (engl. *Student t-test*). Kada varijable nisu normalno raspodijeljene, primjenjivao se Mann-Whitney test sume rangova (engl. *Mann-Whitney Rank Sum Test*). Povezanost (korelacija) između odgovarajućih varijabli određena je Pearsonovim ili Spearmanovim korelacijskim testom, ovisno o normalnosti distribucije podataka. Razina statističke značajnosti postavljena je na  $\text{Alpha} = 0,05$ . Za statističku analizu korišten je program SigmaPlot (version 11.2, Systat Software, Inc, Chicago, USA).

## 5. REZULTATI

U ovom istraživanju ispitano je imaju li zdrave trudnice u trećem tromjesečju trudnoće koje konzumiraju veliku količinu kuhinjske soli veću razinu oksidativnog stresa u usporedbi sa zdravim trudnicama koje konzumiraju normalnu količinu soli. U istraživanju je sudjelovala ukupno 61 zdrava trudnica uredne trudnoće, 31 u NS skupini i 30 u HS skupini.

Opće karakteristike ispitanica prikazane su u Tablici 1. Nije bilo statistički značajne razlike u dobi trudnica, trajanju trudnoće, ITM prije trudnoće te prirastu tjelesne trudnoće između NS i HS skupine trudnica. Ovi rezultati ukazuju da su skupine trudnica koje konzumiraju NS odnosno HS bile uniformne prema dobi, gestacijskoj dobi, te prirastu tjelesne mase u trudnoći. Također, nije bilo statistički značajne razlike u vrijednostima sistoličkog, dijastoličkog i srednjeg arterijskog tlaka između NS i HS skupine zdravih trudnica.

**Tablica 1.** Opće karakteristike trudnica u trećem tromjesečju trudnoće koje konzumiraju normalne (NS) i velike količine kuhinjske soli (HS). Rezultati su prikazani aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom (SD).

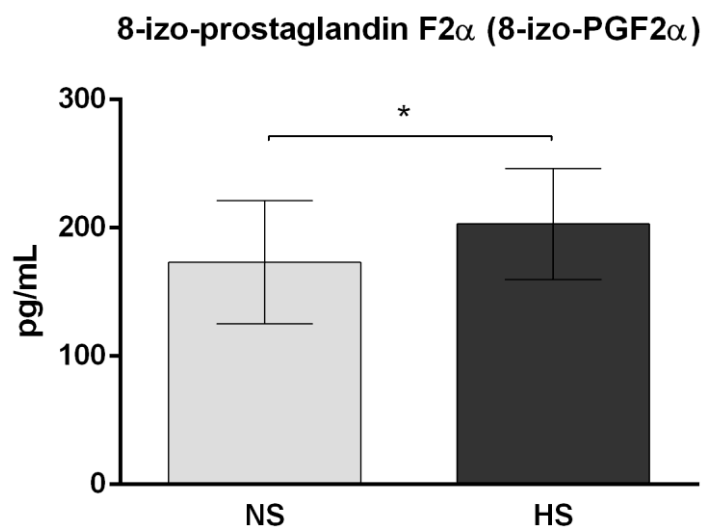
Skupina	NS	HS	P vrijednost
Varijabla			
N	31	30	
Dob (godine)	30 (5)	29 (4)	0,777
Trajanje trudnoće (tjedni)	37,9 (0,8)	37,6 (0,5)	0,168
ITM prije trudnoće (kg/m <sup>2</sup> )	23,9 (4,7)	23,4 (3,4)	0,615
Prirast tjelesne mase u trudnoći (kg)	14,5 (5,7)	15,8 (5,7)	0,405
Sistolički arterijski tlak (mmHg)	111 (8)	110 (11)	0,672
Dijastolički arterijski tlak (mmHg)	75 (6)	73 (6)	0,202
Srednji arterijski tlak (mmHg)	87 (6)	85 (6)	0,301
NS- normalan unos soli; HS- velik unos soli; N- broj ispitanika.			

Rezultati analize 24-satnog urina ispitanica prikazani su u Tablici 2. Klirens kreatinina bio je statistički značajno veći u HS skupini trudnica u usporedbi s NS skupinom. Koncentracije natrija i kalija izlučenog u 24-satnom urinu su bile statistički značajno veće u HS skupini trudnica u usporedbi s NS skupinom. Prosječan dnevni unos kuhinjske soli izračunat iz vrijednosti 24-satne natrijureze kod ispitanica NS skupine bio je 6,0 (1,1) g/dan, a kod ispitanica HS skupine 10,5 (1,7) g/dan.

**Tablica 2.** Analiza 24-satnog urina trudnica u trećem tromjesečju trudnoće koje konzumiraju normalne (NS) i velike količine kuhinjske soli (HS). Rezultati su prikazani aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom (SD).

Skupina	NS	HS	P vrijednost
Varijabla			
N	31	30	
Klirens kreatinina ( $\mu\text{mol}/24\text{h}/\text{kg}$ )	112 (41)	126 (22)	0,025
Natrij (mmol/dU)	102,6 (20,1)	179,6 (29,2)	<0,001
Kalij (mmol/dU)	49,3 (21,2)	69,2 (19,0)	0,016
Dnevni unos kuhinjske soli (g/dan)	6,0 (1,1)	10,5 (1,7)	<0,001
NS- normalan unos soli; HS- velik unos soli; N- broj ispitanika.			

Serumska koncentracija mjenog biljega oksidativnog stresa, 8-izo-PGF $2\alpha$ , bila je statistički značajno veća u HS skupini trudnica u usporedbi sa NS skupinom (8-izo-PGF $2\alpha$  pg/mL NS 173 (48) u usporedbi s HS 203 (43), P = 0,014). Serumska koncentracija 8-izo-PGF $2\alpha$  u NS i HS skupini trudnica u trećem tromjesečju trudnoće prikazana je na Slici 2.

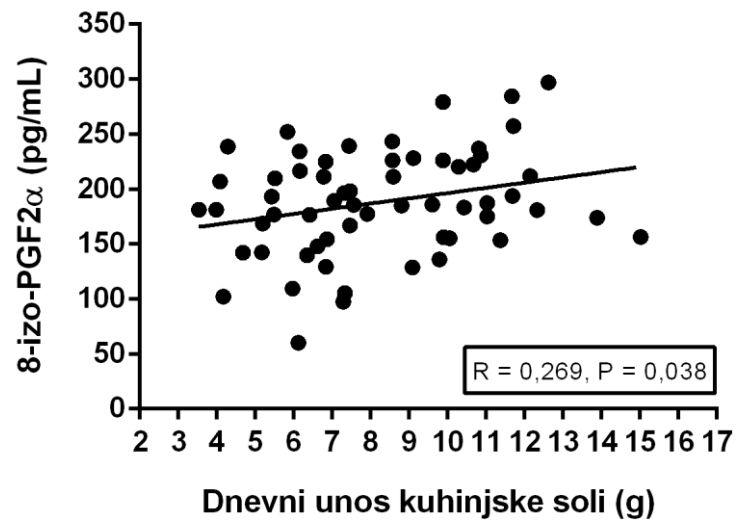


**Slika 2.** Serumska koncentracija 8-izo-prostaglandina F $2\alpha$  (8-izo-PGF $2\alpha$ ) trudnica u trećem tromjesečju trudnoće koje konzumiraju normalne (NS) i velike količine kuhinjske soli (HS).

Rezultati su prikazani aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom (SD), pri čemu stupići prikazuju aritmetičku sredinu, a okomite linije s graničnikom standardnu devijaciju.

\* Studentov t-test za nezavisne uzorke, P = 0,014.

Slika 3. prikazuje povezanost (korelaciju) između dnevnog unosa kuhinjske soli i serumske razine biljega oksidativnog stresa 8-izo-PGF2 $\alpha$ . Postojala je slaba ali značajna pozitivna povezanost između dnevnog unosa kuhinjske soli i serumske koncentracije 8-izo-PGF2 $\alpha$  u populaciji trudnica u trećem tromjesečju trudnoće ( $R = 0,269$ ,  $P = 0,038$ ).



**Slika 3.** Povezanost (korelacija) između dnevnog unosa kuhinjske soli i serumske razine biljega oksidativnog stresa 8-izo-prostaglandina F2 $\alpha$  (8-izo-PGF2 $\alpha$ ) u populaciji zdravih trudnica u trećem tromjesečju uredne trudnoće. Postojala je slaba pozitivna korelacija između dnevnog unosa kuhinjske soli i serumske koncentracije 8-izo-PGF2 $\alpha$ .

## 6. RASPRAVA

Posljednjih nekoliko godina sve se više pozornosti pridaje utjecaju okoliša, stilu života i komorbiditetu na oksidativnu ravnotežu tijela i mogući utjecaj na abnormalnosti povezane s razvojem fetusa i ishodom trudnoće (15). Pojam oksidativni stres odnosi se na neravnotežu između proizvodnje ROS-a i sposobnosti tijela da neutralizira njihove štetne učinke antioksidativnom obranom. Sve veći broj istraživanja usmjeren je na ispitivanje utjecaja oksidativnog stresa u trudnoći na zdravlje majke i fetusa. Brojna istraživanja ukazuju na činjenicu da povećana razina oksidativnog stresa tijekom trudnoće može imati štetan utjecaj na razvoj fetusa, ishod trudnoće, te zdravlje i majke i djeteta (15). Primjerice, povećana razina oksidativnog stresa je povezana s nepravilnom implantacijom embrija, spontanim pobačajem, prijevremenim porodom, niskom porođajnom masom fetusa, hipertenzivnim poremećajima u trudnoći, te raznim malformacijama (15). Upravo se nedovoljna opskrba fetusa hranjivim tvarima i kisikom zbog hipoplazije i abnormalne funkcije posteljice nalazi u središtu ovih oksidativnim stresom uzrokovanih poremećaja.

U ovoj presječnoj studiji ispitano je imaju li zdrave trudnice u trećem tromjesečju trudnoće, a koje konzumiraju veliku količinu kuhinjske soli, veću razinu oksidativnog stresa u usporedbi sa zdravim trudnicama koje konzumiraju normalnu količinu kuhinjske soli. U istraživanju je sudjelovala ukupno 61 zdrava trudnica uredne trudnoće, 31 u NS skupini i 30 u HS skupini.

Rezultati analize 24-satnog urina ispitanica pokazali su da su klirens kreatinina, te koncentracije natrija i kalija bile statistički značajno veće u HS skupini trudnica u usporedbi s NS skupinom. U studiji koju su proveli Barić i sur. u zdravoj populacije rezultati su bili nešto različiti; koncentracija natrija bila je statistički značajno veća u HS skupini u odnosu na NS skupinu, dok klirens kreatinina i koncentracija kalija nisu bile statistički značajno različite u ispitanika na niskoslanjoj i visokoslanjoj dijeti (11). U ovom istraživanju, iako je 24-satni klirens kreatinina bio unutar referentnih vrijednosti i u NS i u HS skupini trudnica, opaženi veći klirens u HS skupini trudnica može ukazati da bi opterećenje solju moglo biti povezano s povećanjem perfuzijskog tlaka bubrega tijekom zdrave trudnoće. Ako se uzme u obzir da je glomerularna hiperfiltracija snažan i neovisan prediktor KVB, osobito u osoba s hipertenzijom, rezultati ove studije mogu sugerirati da bi bubrežna vaskulatura zdravih trudnica mogla biti ranjivija od one populacije koja nije trudna. Međutim, to tek treba istražiti u daljnim studijama.



Studije na eksperimentalnim životinjama jasno su pokazale da povećani oksidativni stres predstavlja ključni mehanizam u razvoju endotelne disfunkcije u uvjetima HS prehrane. Dodatno, pokazalo se da oksidativni disbalans ima ključnu ulogu u oštećenju endotelne mikrovaskularne funkcije izazvanom prehranom HS i kod zdravih pojedinaca. Greaney i sur. izvijestili su da lokalna primjena askorbinske kiseline (vitamina C) ublažava ili poništava oštećenje mikrovaskularne endotelne funkcije uzrokovano HS prehranom u normotenzivnih odraslih osoba (14). Studija Barić i sur. pokazala je da je 7-dnevna HS dijeta dovela do smanjenja antioksidativnog kapaciteta i povećanja oksidativnog stresa neovisno o promjeni krvnog tlaka kod zdravih osoba (11). Ovo istraživanje također je pokazalo značajno višu razinu serumskih biomarkera oksidativnog stresa, tj. 8-izo-PGF2 $\alpha$  u uvjetima HS, kao i slabu pozitivnu korelaciju između unosa soli i 8-izo-PGF2 $\alpha$ . Ovo je u skladu s podacima kod žena koje nisu trudne (11) i ukazuje da disfunkcija endotela uzrokovana HS-om tijekom trudnoće može biti posredovana oksidativnim stresom. Endotelna disfunkcija tijekom trudnoće, koju karakteriziraju promijenjena bioraspodjelivost NO i prekomjerna proizvodnja ROS-a, smatra se jednim od glavnih uzroka preeklampsije (19, 20). Pokazano je da žene s preeklampsijom imaju povećane razine biljega oksidativnog stresa u plazmi, a ukupni antioksidativni status majke kod preeklampsije je smanjen (21). Slaba pozitivna korelacija između dnevnog unosa soli i 8-izo-PGF2 $\alpha$  još jednom ukazuje da bi povećani oksidativni stres mogao predstavljati potencijalnu vezu između unosa HS i oštećenja endotela.

## 7. ZAKLJUČAK

Rezultati ovog istraživanja ukazuju na činjenicu da zdrave trudnice u trećem tromjesečju koje unose više od 7,5 grama soli imaju veću razinu oksidativnog stresa u usporedbi sa zdravim trudnicama koje unose manje od 7,5 grama soli dnevno.

## 8. SAŽETAK

**CILJEVI ISTRAŽIVANJA:** Cilj istraživanja bio je ispitati imaju li zdrave trudnice u trećem tromjesečju trudnoće koje unose više od 7,5 grama soli veću razinu oksidativnog stresa u usporedbi sa zdravim trudnicama koje unose manje od 7,5 grama soli dnevno.

**NACRT STUDIJE:** Istraživanje je ustrojeno kao presječna opservacijska studija (cross-sectional study) u kojoj se svim ispitanicima uzimanje podataka, uzorkovanje i mjerenje vršilo u jednoj vremenskoj točki.

**MATERIJALI I METODE:** U istraživanju je sudjelovala 61 zdrava trudnica između 37. i 40. tjedna gestacije koje su ovisno o procijenjenom dnevnom unosu kuhinjske soli bile podijeljene u skupinu koja je uzimala < 7.5 g soli/dan (NS) i skupinu koja je uzimala >7.5 g soli/dan (HS). Kod svih ispitanica određena je serumska koncentracija biljega oksidativnog stresa 8-izo-prostaglandina F2 $\alpha$  (8-izo-PGF2 $\alpha$ ) pomoću komercijalno dostupno ELISA kit-a.

**REZULTATI:** Prosječan dnevni unos kuhinjske soli izračunat iz vrijednosti 24-satne natrijureze kod ispitanica NS skupine bio je 6,0 (1,1) g/dan, a kod ispitanica HS skupine 10,5 (1,7) g/dan. Serumska koncentracija 8-izo-PGF2 $\alpha$  bila je statistički značajno veća u HS skupini trudnica u usporedbi sa NS skupinom (8-izo-PGF2 $\alpha$  pg/mL NS 173 (48) u usporedbi s HS 203 (43), P = 0,014). Postojala je slaba ali značajna pozitivna povezanost između dnevnog unosa kuhinjske soli i serumske koncentracije 8-izo-PGF2 $\alpha$  u populaciji trudnica u trećem tromjesečju trudnoće (R = 0,269, P = 0,038).

**ZAKLJUČAK:** Zdrave trudnice u trećem tromjesečju koje unose više od 7,5 grama soli imaju veću razinu oksidativnog stresa u usporedbi sa zdravim trudnicama koje unose manje od 7,5 grama soli dnevno.

**KLJUČNE RIJEČI:** oksidativni stres, 8-izo-prostaglandin F2 $\alpha$ , unos soli, trudnoća

**9. SUMMARY****THE EFFECT OF DAILY SALT INTAKE ON 8-ISO-PROSTAGLANDIN F2A  
SERUM CONCENTRATION IN THE POPULATION OF HEALTHY PREGNANT  
WOMEN IN THE THIRD TRIMESTER OF PREGNANCY**

**OBJECTIVES:** This study aimed to investigate whether healthy pregnant women in the third trimester of pregnancy who consume more than 7.5 grams of salt daily have a higher level of oxidative stress compared to healthy pregnant women who consume less than 7.5 grams of salt per day.

**STUDY DESIGN:** This was a cross-sectional observational study in which data collection, sampling and measurement were performed for all subjects at one time point.

**MATERIALS AND METHODS:** 61 healthy pregnant women between the 37th and 40th week of gestation participated in the study, who, depending on the estimated daily intake of table salt, were divided into a group that took < 7.5 g of salt/day (NS) and a group that took > 7.5 g of salt/ day (HS). In all subjects, the serum concentration of the oxidative stress biomarker 8-iso-prostaglandin F2 $\alpha$  (8-iso-PGF2 $\alpha$ ) was determined using a commercially available ELISA kit.

**RESULTS:** The average daily intake of table salt calculated from the 24-hour natriuresis in the NS group was 6.0 (1.1) g/day, and in the HS group 10.5 (1.7) g/day. The serum concentration of 8-iso-PGF2 $\alpha$  was statistically significantly higher in the HS group of pregnant women compared to the NS group (8-iso-PGF2 $\alpha$  pg/mL NS 173 (48) compared to HS 203 (43),  $P = 0.014$ ). There was a weak but significant positive correlation between daily table salt intake and serum 8-iso-PGF2 $\alpha$  concentration in the population of pregnant women in the third trimester of pregnancy ( $R = 0.269$ ,  $P = 0.038$ ).

**CONCLUSION:** Healthy third-trimester pregnant women who consume more than 7.5 grams of salt per day have higher levels of oxidative stress compared to healthy pregnant women who consume less than 7.5 grams of salt per day.

**KEY WORDS:** oxidative stress, 8-iso-prostaglandin F2 $\alpha$ , salt intake, pregnancy

**10. LITERATURA**

1. Betteridge DJ. What is oxidative stress? *Metabolism Journal*. 2000;49;3-8.  
10.1016/s0026-0495(00)80077-3
2. Sies H, Berndt C, Jones DP. Oxidative Stress. *Annual Review of Biochemistry*. 2017;86;715-748. 10.1146/annurev-biochem-061516-045037
3. Burton GJ, Jauniaux E. Oxidative stress. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2011;25;287-299. 10.1016/j.bpobgyn.2010.10.016
4. Birbern E., Sahiner UM., Sackesen C., Erzurum S., Kalayci O. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *WAO Journal*. 2012. 10.1097/WOX.0b013e3182439613
5. Ho E., Galougahi KK., Liu C., Bhindi R., Figtree GA. Biological markers of oxidative stress: Applications to cardiovascular research and practice. *Redox Biology*. 2013;1:483-91. 10.1016/j.redox.2013.07.006
6. Van't Erve TJ, Lih FB, Jelsema C, Deterding LJ, Eling TE, Maosn RP i sur. Reinterpreting the best biomarker of oxidative stress: The 8-iso-prostaglandin F2 $\alpha$ /prostaglandin F2 $\alpha$  ratio shows complex origins of lipid peroxidation biomarkers in animal models. *Free Radical Biology and Medicine*. 2016;95;65-73.  
10.1016/j.freeradbiomed.2016.03.001
7. Kehm R., Baldensoerger T., Raupbach J., Höhn A. Protein oxidation - Formation mechanisms, detection and relevance as biomarkers in human diseases. *Redox Biology*. 2021. 10.1016/j.redox.2021.101901
8. Poznyak AV., Nikiforov NG., Markin AM., Kashirskikh DA., Myasoedova VA., Gerasimova EV. i sur. Overview of OxLDL and Its Impact on Cardiovascular Health: Focus on Atherosclerosis. *Front Pharmacol*. 2020. 10.3389/fphar.2020.613780
9. Singh S., Vrishni S., Singh B.K., Rahman I., Kakkar P. Nrf2-ARE stress response mechanism: a control point in oxidative stress-mediated dysfunctions and chronic inflammatory diseases. *Free Radical Research*. 2010;44:1267-1288.  
10.3109/10715762.2010.507670
10. Jelaković B., Kaić-Rak A., Milicić D., Premuzić V., Skupnjak B., Reiner Željko. Less salt – more health. Croatian action on salt and health (CRASH). *Liječnički list*. 2009;131:87-92.

11. Barić L, Drenjančević I, Mihalj M, Matic A, Stupin M, Kolar L i sur. Enhanced Antioxidative Defense by Vitamins C and E Consumption Prevents 7-Day High-Salt Diet-Induced Microvascular Endothelial Function Impairment in Young Healthy Individuals. *Journal of Clinical Medicine*. 2020;9;843. 10.3390/jcm9030843
12. Boegehold MA., Drenjančević I., Lombard JH. Salt, Angiotensin II, Superoxide, and Endothelial Function. *Compr Physiol*. 2015;6:215-54. 10.1002/cphy.c150008
13. Krajina I., Stupin A., Šola M., Mihalj M. Oxidative Stress Induced by High Salt Diet—Possible Implications for Development and Clinical Manifestation of Cutaneous Inflammation and Endothelial Dysfunction in *Psoriasis vulgaris*. *Antioxidants*. 2022. 10.3390/antiox11071269
14. Greany JL., DuPont JJ., Lennon-Edwards SL., Sanders PW., Edwards DG., Farquhar WB. Dietary sodium loading impairs microvascular function independent of blood pressure in humans: role of oxidative stress. *J Physiol*. 2012. 10.1113/jphysiol.2012.236992
15. Tobała-Wróbel K., Pietryga M., Dydowicz P., Napierała M., Brażert J., Florek E. Association of Oxidative Stress on Pregnancy. *Hindawi*. 2020. 10.1155/2020/6398520
16. Pietryga M., Dydowicz P., Tobała K., Napierała M., Miechowicz I., Gašiorowskaf , A. i sur. Selected oxidative stress biomarkers in antenatal diagnosis as 11–14 gestational weeks *Free radical Biology and Medicine*. 2017;108;517-523. 10.1016/j.freeradbiomed.2017.04.020
17. Magee LA., Nicolaidis KH., von Dadelszen P. Preeclampsia. *The New England Journal of Medicine*. 2022. 10.1056/NEJMra2109523
18. Duhig K., Chapell LC., Shennan AH. Oxidative stress in pregnancy and reproduction. *Obstetric Medicine*. 2016;9;113-116. 10.1177/1753495X16648495
19. Sánchez-Aranguren LC., Prada CE., Riaño-Medina CE., Lopez M. Endothelial dysfunction and preeclampsia: role of oxidative stress. *Front Physiol*. 2012. 10.3389/fphys.2014.00372

20. Matsubara K., Higaki T., Mastubara Y., Nawa A. Nitric oxide and reactive oxygen species in the pathogenesis of preeclampsia, *Int J mol Sci.* 2015. 10.3390/ijms16034600
21. Chiarello DI., Abad C., Rojas D., Toledo F., Vázquez CM., Mate A. i sur. Oxidative stress: Normal pregnancy versus preeclampsia. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2020. 10.1016/j.bbadis.2018.12.005

## 11. ŽIVOTOPIS

### OSOBNI PODATCI:

**Ime i prezime:** Mateja Jurčić

**Datum i mjesto rođenja:** 11. lipnja 1998., Vinkovci

**Adresa:** Ante Starčevića 74, 32272 Cerna

**Mobitel:** +385996845810

**E-mail:** mjurcic@mefos.hr

### OBRAZOVANJE:

- |               |  |
|---------------|--|
| 2021. – 2023. | Medicinski fakultet u Osijeku, Diplomski sveučilišni studij Medicinsko laboratorijska dijagnostika     |
| 2017. – 2021. | Medicinski fakultet u Osijeku, Preddiplomski sveučilišni studij Medicinsko laboratorijska dijagnostika |
| 2013. – 2017. | Gimnazija Matije Antuna Reljkovića Vinkovci, prirodoslovno – matematička gimnazija                     |
| 2005. – 2013. | Osnovna škola Matije Antuna Reljkovića u Cerni   |