

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
"VICTOR BABES" DIN TIMIȘOARA
FACULTATEA DE MEDICINĂ
DEPARTAMENTUL I: ANATOMIE ȘI EMBRIOLOGIE**

HRUBARU INGRID-HENRIETTE-IRIS



**MODIFICĂRI BIOLOGICE ASOCIATE CU
NAȘTEREA PREMATURĂ ȘI NAȘTEREA LA
TERMEN**

REZUMAT

Coordonator științific
PROF. UNIV. DR. ANDREI MOTOC

**Timisoara
2023**

REZUMAT

Nașterea prematură este o problemă majoră de sănătate la nivel mondial, care afectează peste 15 milioane de nou-născuți în fiecare an. În plus, aproximativ 1 milion de copii mor în anual ca urmare a complicațiilor nașterii premature. Pe lângă faptul că este principala cauză de mortalitate la copiii cu vârsta sub 28 de zile, aceasta contribuie, de asemenea, la creșterea prevalenței tulburărilor grave de neurodezvoltare. Având în vedere consecințele personale, economice și de sănătate publică enorme ale nașterii premature, testele predictive sunt esențiale. Acestea sunt importante pentru identificarea femeilor care au o probabilitate crescută de a se confrunta cu o naștere prematură, pentru a oferi intervenții profilactice și pentru a ghida deciziile de management prenatal.

Nașterea prematură este un sindrom complex care poate fi cauzat de o varietate de factori. Stresul, infecțiile materne, ischemia placentară sau leziunile vasculare și supradistensiunea uterină sunt toate cauze frecvente ale nașterii premature. Aceste căi diferă în ceea ce privește începutul și factorii de mediere, dar toate au ca rezultat contracții uterine precoce și naștere prematură. Deși mecanismele exacte care cauzează nașterea prematură spontană rămân neclare, se cunosște faptul că sunt implicați receptori, chemokine și citokine inflamatorii

Perioada de sarcină vine cu o serie de adaptări fiziologice care sunt bine cunoscute ca fiind asociate cu diferite procese imune și cu o stare inflamatorie crescută a femeii însărcinate. Deoarece se consideră că inflamația are un rol semnificativ în declanșarea travaliului atât la nașterile premature, cât și la cele la termen, studiile anterioare s-au axat pe variația markerilor inflamatori și a parametrilor biologici din sânge pentru a determina legătura dintre parametrii serici ai femeii însărcinate și riscul de naștere prematură. S-a constatat că numărul de macrofage crește ca răspuns atât la nașterile la termen, cât și la cele premature, în timp ce neutrofilele sunt mai răspândite în

decidua persoanelor cu nașteri premature. Prin urmare, este plauzibil să se postuleze că o stare inflamatorie anormal de crescută poate declanșa momentul nașterii înainte de cele 37 de săptămâni normale de gestație.

Multe dintre modificările biologice, în special cele legate de inflamație, pot fi evaluate prin hemogramă completă. Cu toate acestea, se știe că, pe lângă nașterea prematură, sarcina normală implică și modificări biologice în organismul matern, inclusiv modificări inflamatorii. Prin urmare, o evaluare a diferențelor dintre modificările normale și cele patologice relevate de analizele de laborator este esențială pentru a determina factorii predictivi.

În această teză am analizat diferiți markeri inflamatori, detectați prin teste de laborator de rutină, în predicția nașterii premature. Subiectul este important și de actualitate, deoarece are implicații pentru îmbunătățirea rezultatelor de sănătate ale nou-născuților prematuri și ale nou-născuților născuți la termen. Relevanța acestui subiect pentru preocupările internaționale, naționale și regionale constă în incidența ridicată a nașterilor premature.

Studiile cuprinse în această teză au fost efectuate pentru a investiga modificările biologice induse de nașterea prematură, în comparație cu nașterea la termen, care pot fi evidențiate prin analize de laborator.

Astfel, datele din aceste studii pot permite dezvoltarea unor abordări îmbunătățite pentru a evalua riscul de naștere prematură, ceea ce ar putea duce la intervenții adecvate pentru a o preveni. În plus, evaluarea riscului de naștere prematură poate fi implementată clinic, având ca rezultat scăderea morbidității neonatale prin intervenții antenatale.

În plus, cercetările din această teză au ca scop investigarea impactului infecției cu SARS-CoV-2 asupra femeilor însărcinate, cu un accent deosebit pe înțelegerea caracteristicilor clinice și biologice care contribuie la nașterea prematură.

Obiectivele științifice ale acestei cercetări doctorale sunt de a identifica și caracteriza modificările biologice asociate cu nașterea prematură și nașterea

la termen, de a explora impactul potențial al acestor modificări asupra sănătății în timpul sarcinii și asupra rezultatelor neonatale și de a evalua eficacitatea intervențiilor menite să îmbunătățească rezultatele de sănătate ale copiilor născuți prematur și ale nou-născuților născuți la termen.

Prezenta teză este împărțită în două secțiuni principale.

Partea generală prezintă stadiul actual al cunoașterii. Această secțiune oferă, de asemenea, o prezentare generală a modificărilor biologice asociate cu nașterea prematură și cu nașterea la termen, inclusiv modificări ale sistemelor respirator, cardiovascular și imunitar.

Partea specială va explora impactul potențial al acestor schimbări asupra rezultatelor sarcinii. Această secțiune include trei studii ale căror rezultate au fost publicate în reviste indexate în Clarivate Web of Science.

Studiul 1, prezentat în capitolul 5 al tezei, a avut ca scop explorarea caracteristicilor clinice și biologice ale femeilor gravide cu infecție cu SARS-CoV-2 în timpul sarcinii în legătură cu nașterea prematură. În ceea ce privește legătura dintre infecții și nașterea prematură, având în vedere recenta pandemie, mi-am concentrat interesul în această teză și asupra infecției SARS-CoV2 în timpul sarcinii.

În timp ce literatura de specialitate existentă a oferit unele informații despre riscurile potențiale de prematuritate și greutate mică la naștere asociate cu infecția cu COVID-19 în timpul sarcinii, există încă informații limitate cu privire la rezultatele sarcinii în funcție de trimestrul de infecție, precum și la caracteristicile clinice și biologice ale pacientelor gravide care pot contribui la nașterea prematură.

Studiul a fost realizat urmând un design observațional retrospectiv care s-a concentrat pe femeile gravide care au contractat SARS-CoV-2 în timpul sarcinii și au fost internate sau evaluate la Clinica de Obstetrică și Ginecologie a Spitalului Municipal de Urgență Timișoara între 1 martie 2020, și 31 decembrie 2021.

În timpul procesului de selecție, un total de 428 de femei însărcinate au fost incluse în analiza finală. După procesul de selecție, am identificat 61 de femei gravide eligibile cu antecedente de infecție cu SARS-CoV-2 în timpul ultimei sarcini care a dus la naștere prematură. De la acest punct de plecare, a fost selectat un grup de potrivire într-un raport de 2:1 dintre femeile gravide pozitive la COVID-19 în timpul sarcinii care au născut la termen. Un al doilea grup de control format din femei care au născut prematur fără infecție cu COVID-19 în proporție de 4:1 cu grupul de studiu.

Istoricul medical al pacientei și rezultatele actuale ale sarcinii, au identificat că femeile însărcinate cu COVID-19 care au născut prematur au avut tendințe similare cu grupul de control al pacientelor cu nașteri premature fără infecție cu COVID-19. Astfel, s-a observat că hipertensiunea gestațională a fost o complicație care a afectat mai frecvent cele două grupuri de prematuri (9,8% vs. 9,5% vs. 2,4% în grupul COVID-19 fără prematuritate, valoare $p = 0,039$). Dintre complicațiile sarcinii actuale, anemia a fost semnificativ statistic mai frecventă în rândul celor două grupuri de prematuritate comparativ cu grupul de control cu nașteri la termen. Nu a existat nicio diferență semnificativă între grupul de prematuritate COVID-19 și grupul de control al mamelor fără COVID-19 care au născut prematur (24,6% vs. 24,3%, valoare $p = 0,903$). O altă constatare importantă a fost aceea că pacientele care au născut prematur au avut semnificativ mai multe infecții cu SARS-CoV-2 în timpul etapelor târzii ale sarcinii, comparativ cu grupul de control (47,5% dintre pacientele cu COVID-19 în trimestrul doi, comparativ cu 32,3% în grupul de control cu nașteri la termen și COVID-19, valoare $p = 0,005$). În plus, s-a observat că aceiași pacienți din grupul de prematuri cu COVID-19 au avut o probabilitate semnificativ mai mare de a avea o infecție simptomatică (76,4% față de 47,6%, valoare $p = 0,021$).

Numărul de leucocite din sânge a fost semnificativ mai ridicat în grupul de prematuritate COVID-19, probabil din cauza infecției cu SARS-CoV-2 la sfârșitul sarcinii (26,2% valori ridicate, față de 11,3% în grupul COVID-19 fără

prematuritate, respectiv 15,6% în grupul fără prematuritate COVID-19, valoare $p = 0,042$). Alte constatări semnificative au fost prezența anemiei mai frecventă în grupul de prematuritate COVID-19, la 21,3% dintre pacienți, comparativ cu grupul de prematuritate fără COVID-19 (11,9%, $p = 0,037$). În cele din urmă, nivelurile CRP au fost mai ridicate în rândul femeilor gravide cu infecție cu SARS-CoV-2 care au născut prematur, comparativ cu grupul de control al nașterilor premature fără antecedente de COVID-19 (16,4% vs. 7,4%, $p = 0,024$).

Un model de regresie liniară multiplă a fost construit pentru a observa factorii predictivi pentru nașterea prematură la gravidele COVID-19, deoarece infecția cu SARS-CoV-2 singură nu a prezentat o semnificație statistică în determinarea unei nașteri premature ($\beta = 1.09$, CI = 0.94-1.15, $p = 0.067$). Predictorii semnificativi din constatările clinice au fost fumatul, hipertensiunea gestațională, ruperea pramtură de membrane, infecția de tract urinar, precum și infecția cu SARS-CoV-2 în timpul celui de-al treilea trimestru de sarcină ($\beta = 1.55$, CI = 1.38-2.93, $p = 0,014$), și o infecție simptomatică ($\beta = 1.23$, CI = 1.09-1.38-2.21, $p = 0.036$). În plus față de constatările clinice semnificative, s-a constatat că unii parametri biologici au avut o influență semnificativă asupra apariției nașterii premature în asocieră cu infecția SARS-CoV-2. Anemia a fost cel mai puternic factor de predicție în asocieră cu COVID-19 ($\beta = 3.65$, CI = 1.46-5.39, $p < 0.001$), urmată de CRP ridicată ($\beta = 2.11$, CI = 1.20-3.06, $p < 0.001$) și, respectiv, IL-6 ($\beta = 1.92$, CI = 1.20-2.47, valoare $p = 0.001$).

În concluzie, constatările noastre susțin ideea că femeile gravide seropozitive la SARS-CoV-2 nu expun fătul la un risc suplimentar de restricție a creșterii intrauterine sau la complicații semnificative. În cazul infecției cu SARS-CoV-2 în timpul celui de-al treilea trimestru, se recomandă ca aceste paciente să fie internate în spital pentru observarea evoluției clinice și a parametrilor biologici, cum ar fi anemia și creșterea markerilor inflamatori, cu efect suplimentar asupra rezultatului sarcinii.

Studiul 2, prezentat în capitolul 6, a urmărit să investigheze rolul predictiv al biomarkerilor materni și al scorurilor inflamatorii, inclusiv raportul neutrofile/limfocite (NLR), raportul trombocite/limfocite (PLR), raportul monocite/limfocite (MLR), indicele de imunitate-inflamație sistemică (SII) și indicele de răspuns inflamator sistemic (SIRI), în evaluarea riscului de naștere prematură. Cercetarea a fost realizată sub forma unui studiu observațional la Departamentul de Obstetrică și Ginecologie din cadrul Universității de Medicină și Farmacie Victor Babeș din Timișoara, România.

Studiul a cuprins 486 de paciente analizate pentru modificări ale parametrilor biologici în timpul perioadei de sarcină, pentru a determina rolul predictiv al diferitelor scoruri inflamatorii calculate din biomarkerii serici de bază. Pacientele au fost împărțite în două grupuri de studiu egale, un grup de referință format din 243 de femei gravide care au născut prematur și 243 de femei gravide care au născut la termen.

. La un total de 209 pacienți li s-au prelevat probe de sânge în timpul celui de-al doilea trimestru de sarcină, în timp ce ceilalți 277 au fost măsurați în timpul celui de-al treilea trimestru, fără a se înregistra schimbări semnificative între cele două grupuri de studiu. Dintre markerii biologici, s-a observat că numărul de leucocite din sânge, numărul de limfocite, numărul de monocite și numărul de trombocite au avut valori medii semnificativ diferite. În plus, anemia a fost semnificativ mai frecventă în rândul pacientelor cu naștere prematură, cu un nivel al hemoglobinei de 11,72 g/dL, comparativ cu 12,99 g/dL (valoare $p < 0,001$). În ceea ce privește scorurile inflamatorii calculate pentru fiecare grup de studiu, s-a observat că scorurile NLR (13.75 vs. 9.06, $p < 0.001$), dNLR (6.92 vs. 5.11, $p < 0,001$), PLR (286.2 vs. 237.0, $p = 0,007$) și MLR (0.86 vs. 0.79, $p = 0,005$) au fost semnificativ mai mari în rândul celor care au avut o naștere prematură.

Analiza ROC și ariile calculate sub curbă au fost utilizate pentru a determina rolul predictiv al markerilor inflamatori calculați în nașterea prematură. S-a observat că valorile AUC ale NLR, dNLR, PLR și MLR au fost

mai mari de 0,600, respectiv NLR a avut cea mai mare valoare dintre scorurile testate (AUC = 0.694, valoare $p = 0.009$), cu cea mai mare sensibilitate în acest studiu (71%). Cea mai mare specificitate a fost obținută de dNLR, cu 70%, și o valoare AUC de 0,655 (valoare $p = 0.022$). PLR a avut a doua cea mai mare valoare AUC (0.682) și cel mai bun scor în ceea ce privește sensibilitatea (70%) și specificitatea (69%) ($p = 0.015$). În cele din urmă, MLR a avut cel mai mic scor AUC (0.607) și cele mai mici valori de sensibilitate/specificitate dintre scorurile semnificative din punct de vedere statistic ($p = 0.048$). Scorurile SII și SIRI au avut valori AUC calculate sub 0,600, fără semnificație statistică. Analiza univariată de regresie Cox a calculat un raport de risc pentru sarcină prematură de 3.61 (valoare $p < 0,001$) pentru un scor NLR peste 9,0 (valoare log-rank $p = 0.046$). Riscul a fost de 3.13 ori mai mare atunci când un scor dNLR a depășit valoarea cut-off de 9.8 (valoare log-rank $p = 0.020$). Riscul PLR a fost cel mai ridicat dintre scorurile calculate, cu un HR de 4.07 (valoare- $p < 0.001$), peste pragul de 250 (valoare- p log-rank $p = 0.003$). În cele din urmă, un scor MLR mai mare de 0.70 a reprezentat un risc de 1.96 ori mai mare de sarcină prematură (valoare log-rank $p = 0.039$). Scorurile SII și SIRI au fost eliminate din analiza de probabilitate, deoarece nu au prezentat rezultate semnificative.

În concluzie, scorurile inflamatorii NLR, dNLR, PLR și MLR măsurate pe parcursul celui de-al doilea și al treilea trimestru de sarcină au prezentat o valoare predictivă ridicată pentru nașterea prematură. Viitoarele cercetări clinice ar trebui să studieze tehnicile de diminuare a impactului asociat cu niveluri ridicate ale acestor indici, pentru a îmbunătăți terapiile și managementul în vederea diminuării prematurității.

Studiul 3, prezentat în capitolul 7 al acestei teze, a urmărit să evalueze utilitatea hemoglobinei, a scorului hemoglobină-albumină-limfocite-plachete (HALP) și a parametrilor de coagulare ca predictor ai nașterii premature.

Acest studiu a fost conceput ca o cohortă retrospectivă la Clinica de Obstetrică și Ginecologie a Spitalului Municipal de Urgență din Timișoara,

România, în afiliere cu Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" din Timișoara, România.

La finalul procesului de selecție a pacienților, un total de 322 de femei gravide eligibile au fost incluse în analiză, cu un profil complet de analize de laborator.

S-a observat că a existat o diferență semnificativă din punct de vedere statistic între valorile medii ale limfocitelor în grupurile de prematuritate și "fără prematuritate", deoarece femeile care au născut prematur au avut un număr mai mic de limfocite comparativ cu grupul de control ($0.78 \times 10^9/L$ față de $1.06 \times 10^9/L$, valoare $p < 0.001$). În plus, nivelul hemoglobinei a fost semnificativ mai scăzut în rândul femeilor din grupul de prematuritate (113 g/L vs. 139 g/L, valoare- $p < 0.001$). Parametrii de coagulare PT și aPTT au fost, de asemenea, scăzuți în grupul de prematuritate, 12.9s vs. 13.3s, ($p = 0.041$) și, respectiv, 26.7 s vs. 27.9 s ($p < 0.001$). Nivelurile medii de albumină au fost de 31.4 g/L în rândul femeilor care au născut prematur, comparativ cu 36.6 g/L în rândul celor care au născut la termen ($p < 0.001$). Fibrinogenul și d-dimerii, pe de altă parte, au fost semnificativ mai crescuți în grupul prematurității, 229 ng/mL față de 216 ng/mL ($p = 0.009$) și, respectiv, 5.13 g/L față de 3.10 g/L în grupul "fără prematuritate" ($p < 0.001$). Valoarea medie a scorului HALP în rândul femeilor care au născut prematur a fost de 12.82, comparativ cu 23.96 în grupul de control ($p < 0.001$). Scorul FAR a fost peste valoarea limită în grupul de prematuritate (0.16 față de 0.08, $p < 0.001$).

Aria calculată sub curbă (AUC) a fost mai mare de 0.600 pentru toți cei șase parametri studiați, deși niciunul dintre ei nu a fost mai mare de 0.700. Prin urmare, se poate considera că acestea au o discriminare slabă, chiar dacă au semnificație statistică. S-a observat că cea mai mare valoare a fost reprezentată de scorul HALP cu AUC = 0.680 și, de asemenea, cea mai mare sensibilitate (75 %, valoare $p = 0.001$). Cea mai mare specificitate a fost obținută de timpul de protrombină (69%), precum scorul HALP, cu o valoare, de asemenea, de 69%. Scorul FAR a avut o AUC de 0.646, cu o sensibilitate de

68% și o specificitate de 64% ($p = 0.020$). Toate celelalte variabile au fost estimări semnificative pentru riscul de naștere prematură, deși cu o acuratețe mai mică.

Femeile gravide cu niveluri de hemoglobină sub 120 g/L (12.0 g/dL) au avut o probabilitate cu 3,28 mai mare de a naște prematur (valoare $p < 0.001$). Un timp de protrombină mai mic de 12,5 s a determinat un risc de 2,11 ori mai mare de naștere prematură ($p = 0.038$). În mod similar, aPTT sub 25 s a fost legat de o probabilitate cu 3,24 mai mare de a naște prematur. Cu toate acestea, cei mai puternici factori de predicție au fost D-dimerii peste 250 ng/mL (OR = 4,26), scorul FAR sub 0,1, cu un raport de șanse de 5,30, precum și scorul HALP cu un OR de 6,09 pentru o valoare limită de peste 24 ($p < 0.001$).

În concluzie, nivelul hemoglobinei, scorul asocierii hemoglobinei, albuminei, limfocitelor și trombocitelor (HALP) și parametrii de coagulare, cum ar fi timpul de protrombină (PT), timpul de coagulare a tromboplastinei parțiale activate (aPTT), D-dimerii și raportul fibrinogen/albumină (FAR) în timpul celui de-al treilea trimestru de sarcină s-au dovedit a fi determinanți semnificativi pentru riscul de naștere prematură. Cu toate acestea, este necesară o validare externă suplimentară pentru a confirma acuratețea acestor predictorii pentru nașterea prematură, deoarece toți au prezentat un nivel slab de discriminare.

Pe scurt, în studiile prezentate în această teză se arată că nașterea prematură poate fi prezisă cu ajutorul unor biomarkeri derivați din hemogramă. Marele avantaj al acestor markeri este că pot fi utilizați chiar și în multe spitale sau clinici mici fără posibilitatea de a utiliza teste avansate sau costisitoare. Astfel, susțin cu tărie faptul că direcția în care ar trebui să se îndrepte depistarea riscului de naștere prematură în România este utilizarea biomarkerilor NLR, PLR sau HALP.

Acești markeri s-au dovedit a fi predictorii importanți în multe alte patologii. De asemenea, a fost demonstrată utilitatea lor în predicția nașterii premature. Cu toate acestea, o validare pe populația românească nu a fost

demonstrată până la publicarea studiilor din această teză, ceea ce demonstrează originalitatea acestei cercetări.

În cele din urmă, consider necesar validarea acestor studii în alte clinici, aceste scoruri fiind utilizate cu succes în clinica noastră de către mai mulți medici. În plus, aceste scoruri pot fi luate în considerare în cadrul programelor guvernamentale naționale de reducere a nașterilor premature și, prin urmare, a mortalității neonatale.