

1. Bochniewska V., Goszczyk A., Jung A., Muszynska J. Reasons for urinary tract infections in children based on personal observations. *Pol Merkkmisz Lek.*, 2001, Apr. 10 (58): p.281-283.
2. Cristian M.T., Mccoll J.H., Mackenzie R. et. al. Risk assessment of renal cortical scarring with urinary tract infection by chemical features and ultrasonography. // *Arch Dis Child.* 2000 Nov; 83 (5): p.454-458.
3. Justice S.S., Hung C.T., Theriot J.A., Fletcher D.A., Anderson G.G., Footer M.J., Hultgreen S.J. Differentiation and developmental pathways of uropathogenic *Escherichia coli* in urinary tract pathogenesis. *PNAS*, 2004, v. 101, no.5. p.1333-1338.
4. Matsumoto F., Tohda A., Shimada K. Effect of ureteral re implantation on prevention of urinary tract infection and renal growth in infants with primary vesicoureteral reflux. // *Int. J. Urol*, 2004 Dec., 11(12): p.1065-1069.
5. Tănase A., Rusnac T. Maladiile nefrourinare la copil. Chişinău, 2001, p. 242-263.
6. Адаменко О.Б. Врожденный гидронефроз у детей. В: *Детская хирургия.* 2002, №4, с.21-24.
7. Подгорная Т.Г., Резник Б.Я., Минков К.П., Кривенькая М.П. Частота и клинико-генетическая характеристика аномалий органов мочевой системы у детей. // *Урология и нефрология*, 1993, № 3, с.13-16.

IMPORTANȚA CITOKINELOR ÎN PRONOSTICUL DECOLĂRII PREMATURE A PLACENTEI LA GRAVIDE CU VÂRSTA PESTE 35 ANI

Aliona Dobrovolskaia-Catrinici

Catedra Obstetrică și Ginecologie USMF „Nicolae Testemițanu”

Centrul de Sănătate a Reproducerii și Genetică Medicală

Summary

The importance of cytokines in prognosis of placenta abruptio in pregnancy over 35

Placenta abruptio (PA) is often accompanied by profuse bleeding, in some cases the onset of hemorrhagic shock and even disseminated intravascular coagulation (DIC). Early diagnosis of this complication and the application of preventive methods in pregnant with compromise prediction would change both the mother and fetus risks. The objective of this study was to investigate the correlation between cytokine levels in fetal amniotic fluid (AF) and maternal blood samples in the second trimester of pregnancy in pregnant women after 35 years which was subsequently certified placenta abruptio. It was found that the onset of placenta abruptio is preceded by a significant increase of IL-12 and VEGF in AF and IL-6 in maternal blood.

Rezumat

Decolarea prematură a placentei, adesea este însoțită de hemoragii abundente în unele cazuri cu declanșarea șocului hemoragic și chiar sindromului CID. Diagnosticul precoce al acestei complicații cât și aplicarea metodelor profilactice la gravidele cu pronostic compromis ar schimba atât riscul matern cât și cel fetal. Obiectivul studiului dat a fost de a investiga corelația dintre nivelul citokinelor în lichidul amniotic (LA) fetal și sângele matern, prelevate în trimestrul II de sarcină la gravide cu vârsta după 35 ani la care ulterior s-a atestat decolarea prematură a placentei. S-a constatat că declanșarea decolării premature a placentei este precedată de creșterea semnificativă ale IL-12 și VEGF în LA și a IL-6 în sângele matern.

Actualitatea temei

În ultimii ani, în Republica Moldova, se determină amânarea sarcinii după vârsta de 35 ani [8]. Conform datelor Centrului Național de Statistică, în ultimul deceniu rata de naștere la femeile peste 35 ani a crescut de la 5,7% în 2000 la 7,2% în 2011 [4], cu toate acestea efectul întârziat al sarcinii din punct de vedere al fertilității biologice, este parțial acoperit de schimbările în caracteristicile practicilor specializate de monitorizare, competențe calitative ante și neonatale.

Odată cu vârsta, organismul femeii este mai susceptibil la manifestările patologice cronice, complicațiile medicale în sarcină la gravidele peste 35 ani sunt determinate de îmbătrânirea sistemului de reproducere, care include riscul crescut de avorturi spontane, anomalii cromozomiale, hipertensiunea indusă de sarcină, diabet gestațional, sarcini multiple, placenta previa, placenta abruptio (PA), operația cezariană, nașterea prematură și greutatea mică la naștere. Totodată, acest lucru nu se poate referi la toate gravide peste 35 ani, fiind în condiții de maximă informatizare, există posibilitatea de anticipare și înlăturare a potențialelor patologii apărute, pentru a mări longevitatea stării satisfăcătoare, inclusiv în cursul perioadei reproductive.

Una din complicațiile în timpul perioadei de sarcină și naștere este hemoragia, care adesea se datorează inserției declive a placentei - placenta previa, ca rezultat apare riscul pentru decolarea prematură a placentei [6]. Vârsta înaintată a gestantelor, patologii în antecedente, noxele profesionale, multiparitatea combinată cu mărirea incidenței operațiilor cezariene condiționează creșterea cazurilor de complicarea sarcinii prin dezlipirea prematură a placentei. Diagnosticul precoce al patologiilor ce complică evoluția sarcinii ar influența semnificativ pronosticul riscului matern în sarcină (hemoragii cu sau fără asocierea CID, mortalitatea maternă) și riscul fetal (retard de creștere intrauterină, prematuritatea infantilă și mortalitatea perinatală).

Numeroasele studii au identificat rolul citokinelor în patogeneza decolării premature a placentei [3, 5, 7, 9]. Investigațiile lichidului amniotic fetal în perioada trimestrul II de sarcină identifică rolul citokinelor pro și antiinflamatorii ca biomarkeri semnificativi evoluției patologice a sarcinilor, pentru detectarea infecției intrauterine [2, 9]. Cu toate acestea, concluziile cu privire la rolul predictiv al citokinelor în prognozarea complicației placenta abruptio la vârsta după 35 ani rămân neconcludente.

Scopul acestui studiu prospectiv a fost de a identifica corelația dintre decolarea precoce a placentei și nivelul citokinelor din lichidul amniotic fetal și din serul maten colectate în primul trimestru al sarcinii la gravide cu vârsta peste 35 ani.

Materiale și metode

1. Pacienți:

Studiul clinic a fost realizat la Centrul Național de Sănătate al Reproducerii și Genetică Medicală din Republica Moldova care a inclus femeile însărcinate cu vârsta peste 35 de ani, supuse unui diagnostic prenatal invaziv în perioada anilor 2011-2012. Din cohorta de 96 de femei, 5 paciente au fost incluse în grupul cu complicarea sarcinii și nașterii prin placenta abruptio (PA) și 14 femei cu sarcina fiziologică, care au fost incluse în grupul control.

Studiul a fost aprobat de către Comitetul de Etică Medicală, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu". Consimțământul informat a fost obținut de la fiecare subiect la începutul studiului.

2. Amniocenteza și probele de sânge:

Amniocenteza a fost realizată transabdominal în condiții aseptice sub ghidaj ecografic, 20 ml de lichid amniotic s-au extras primordial pentru testele de diagnostic prenatal citogenetic, ulterior 10 ml lichid amniotic s-au extras și împărțit în porțiuni de 2 ml și s-a depozitat la -48 ° C până la analiza acestora.

Sângele a fost colectat de la gravide în urma procedurii de amniocenteză, s-au colectat în tuburi pentru extragerea serului și tuburile care conțin EDTA ca anticoagulant pentru extracția plasmăi. Plasmă și ser s-a obținut în urma centrifugării la 3000 gn timp de cinci minute și s-au depozitat la -48 ° C până la analiză.

3. Analiza concentrațiilor citokinelor serice și din lichidul amniotic:

Cercetarea a fost efectuată în cadrul laboratorului biochimic USMF „Nicolae Testemițanu”, sub conducerea profesorului universitar V. Gudumac.

Concentrațiile IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF- α , VEGF, și SDF-1a au fost măsurate cantitativ prin intermediul enzimei specifice disponibile comercial în testul (ELISA) kituri (PeproTech Inc, Minneapolis, USA) în conformitate cu instrucțiunile producătorului. Testele au fost efectuate în plăci immune cu 96-godeuri (MaxiSorp, Nunc, Wiesbaden, Germania). Prin intermediul spectrofotometrului PowerWave HT microplate BioTek, s-a identificat concentrația citokinelor prezente în LA fetal și serul matern. Curba standard a fost obținută în paralel cu fiecare test și rezultatele au fost convertite în pg / mL.

4. Analiza statistică:

Analiza statistică a datelor a fost realizată de către testul t Student și testul ANOVA. Diferențele au fost considerate ca fiind semnificative atunci când $p \leq 0,05$, și extra semnificative, când $p \leq 0,01$. Datele sunt prezentate ca medie \pm SEM.

Rezultate

În studiul dat, din cohorta de 96 femei investigate peste 35 ani, s-au identificat 5 cazuri, sarcina cărora ulterior s-a complicat cu decolare prematură de placenta, grupul control a fost constituit din 14 femei cu evoluția fiziologică a sarcinii. Din toate cazurile investigate, decolarea prematură a placentei s-au înregistrat în termenul după 35 săptămâni de gestație și s-a soldat cu nașterea prematură. Nu s-a constata vre-o deosebire specifică între loturile incluse în studiu la etapa trimestrului II de sarcină ce ține de antecedentele obstetricale și anamnestice ale gravidelor peste 35 ani.

În serul sanguin prelevat de la gravidele la care ulterior s-a dezvoltat decolarea prematură a placentei s-a atestat o creștere semnificativă a IL-6 ($p < 0,01$). Pe de altă parte, nivelul IL-6 din LA recoltat de la gravidele cu decolarea prematură a placentei s-a redus nesemnificativ (tab.1).

Tabelul 1

Concentrațiile IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF- α , SDF-1 α și VEGF în sângele matern și lichidul amniotic la gravide care au dezvoltat PA

Mediatori imuni	Concentrația medie pg / ml (interval)						
	În lichid amniotic			p	În ser matern		p
	PA (n=5)	Control (n=14)	PA (n=5)		Control (n=14)		
IL-6	2026.8 \pm 198	2501.2 \pm 275	0.34	1657.8 \pm 284	1061 \pm 88	0.01	
IL-8	2997.2 \pm 405	2741.1 \pm 380	0.74	403.6 \pm 67	332.2 \pm 26	0.25	
IL-10	1370.0 \pm 86	1878.5 \pm 302	0.34	399.4 \pm 54	461.7 \pm 73	0.63	
IL-12	2536.0 \pm 180	1777.0 \pm 113	0.003	548.4 \pm 79	746.9 \pm 150	0.46	
SDF-1 α	1610.8 \pm 101	1417.5 \pm 86	0.24	575.0 \pm 121	547.0 \pm 50	0.8	
VEGF	3969.6 \pm 1161	1501.2 \pm 315	0.01	408.2 \pm 38	367.7 \pm 48	0.64	
TNF- α	54.5 \pm 35	18.8 \pm 1,65	0.09	-	-	-	

Datele sunt exprimate ca valoare medie \pm devierea standard.

În LA fetal s-a stabilit o diferență evidentă a concentrației IL-12 între grupul control și a celui la care s-a dezvoltat decolarea prematură a placentei, unde nivelul citokinei date a crescut aproximativ cu 50% ($p = 0.003$). Totodata nivelul concentrației VEGF în LA fetal la gravidele din grupul PA a fost crescut practic de două ori în comparație cu grupul control ($p = 0,01$), deși în serul matern s-a evidențiat doar o tendință de augmentare a concentrației acestui mediator imun.

O tendință de diminuare a concentrației IL-10 atât în serul matern, cât și în LA s-a atestat în lotul cu decolarea prematură a placentei.

Media nivelului TNF- α în lotul PA a crescut din contul unei paciente, la care s-a atestat concentrația 195,1 pg/ml, dar în general, concentrațiile atestate la celelalte paciente din grupul dat nu diferă de concentrațiile din lotul martor.

În LA fetal s-a evidențiat o tendință ușoară de creștere a concentrației a SDF-1a în grupul PA ($p = 0,24$), dar nu a fost diferită în serul matern. De asemenea, la gravidele cu decolarea prematură a placentei s-a evidențiat o tendință de creștere a concentrațiilor IL-8 în LA și serul matern.

Discuții

Patogeneza decolării premature a placentei în multe cazuri nu este bine definită, totodată studiile în subiectul dat asociază ruperea spontană a rețelei vasculare din decidua bazală și creșterea brusca a presiunii din sistemul venos uterin cu vasospasm precapilar, stază, anoxia miometrului, favorizând hipercontractilitate cu decolarea prematură a placentei [1].

Citokinele participă activ în procesele menționate menținând homeostazia sistemului imun cu un rol impunător în afecțiunile celulare cât și în controlul de creștere placentară în timpul sarcinii. Astfel dezechilibrele concentrațiilor de citokine în sarcină atestă prezența cât a unei infecții intrauterine, atât și existența unei probabile patologii neonatale [2], ceea ce avea un rol important în determinarea genezei mecanismului decolării prenatale a placentei.

În urma rezultatelor primite în studiul dat, mediatorii imuni identificați, se constată a fi implicați în predicția complicării sarcinii prin decolarea prematură a placentei. Importanța multifuncțională a citokinei IL-6, implicate în mecanismele răspunsului imun în faza acută a inflamației, regenerarea celulelor, hematopoieza, și tranziția de la imunitatea înnascută la cea dobândită [7], în cazul studiului dat se asociază cu complicarea sarcinii prin placenta abruptio în serul matern recoltat în trimestrul II de sarcină, ce ar putea anticipat prezice evoluția sarcinii prin decolarea prematură a placentei.

În cazul studiului nostru s-a identificat o tendință de diminuare a acestui mediator imun în cazurile grupului PA în raport cu cel control. Rolul supresiv al IL-10 în cazurile complicării evoluției sarcinii prin placenta abruptio au fost expuse în lucrarea Hata T. și colab. [5].

În alte studii, concentrația mărită a IL-12 în LA [9], se determină în cazurile nașterilor premature. Valoarea statistică relevantă a augmentării concentrației citokinei IL-12 din LA fetal în studiul nostru, la grupul cu afectarea sarcinii prin decolarea prematură a placentei indică importanța prezenței acesteia în perioada trimestrului II de sarcină pentru prognozarea precoce a complicării sarcinii prin PA.

Este cunoscut faptul, că angiogeneza este reglementată de mai mulți factori de creștere, citokine și receptorii lor. Printre acestea, se enumeră și factorul VEGF. S-a stabilit că VEGF este esențial pentru dezvoltarea fetală, astfel în cazul pierderii unei singure copii a genei, VEGF poate determina letalitatea embrionară [3]. Dovezi experimentale arată, că elemente imunologice ale factorului vascular endotelial de creștere, factorului placentar de creștere (PlGF) și receptorii acestora VEGFR-1 (Flt-1) și VEGFR-2 (Flk-1/KDR), care sunt prezente în decidua joacă un rol semnificativ în dezvoltarea rețelei vasculare fetoplacentare în sarcina normă [11]. Sincronizarea coordonată între mamă, placenta și făt se poate modifica în cazul patologiei legate de vascularizarea placentară. Astfel, prezența acestui factor în studiul nostru la grupul PA corelează cu posibilitatea survenirii decolării premature a placentei în evoluția sarcinii.

În concluzie, studiul dat demonstrează relația dintre augmentarea concentrației factorilor imuni (TNF- α , IL-12 și VEGF) din LA fetal și IL-6 din serul matern în trimestrul II de sarcină și riscul decolării premature a placentei în ultimul trimestru de sarcină.

Bibliografie

1. Bernischke K, Kaufmann P. Pathology of the human placenta. 4th ed. New York (NY): Springer; 2000.
2. Bowen J.M., Chamley L., Keelan J.A., Cytokines of the Placenta and Extra-placental Membranes: Roles and Regulation During Human Pregnancy and Parturition Placenta Volume 23, Issue 4, 2002;257-273.
3. Chaiworapongsa T, Kusanovic JP, Savasan ZA, et al. Fetal death: a condition with a dissociation in the concentrations of soluble vascular endothelial growth factor receptor-2

- between the maternal and fetal compartments. J Matern Fetal Neonatal Med. 2010 Sep;23(9):960-72.
4. Dobrovolskaia-Catrinici Aliona. Features of the course of pregnancy in woman after 35 years, advantages and concerns. Public health, economy and management in medicine. 2012; 2(41):41-5.
 5. Hata T., Kawamura. T., Fujiwaki. R., Aoki. S., Hata, K., Inada, K. Interleukin-4, interleukin-10, and soluble tumor necrosis factor receptors in cord blood. Hata, Gynecol Obstet Invest. 1997;43(3):155-7.
 6. Hărăbor Ana-Maria, Hărăbor V. Particularități clinice ale hemoragiilor la pacientele cu placenta praevia. Practica Medicală, Iași; Vol. V, 2010; 3(19):196-203
 7. Jones, S. A. 2005. Directing transition from innate to acquired immunity: defining a role for IL-6. J. Immunol. 175: 3463–3468.
 8. Lampinen R, Vehviläinen-Julkunen K, Kankkunen P. A review of pregnancy in women over 35 years of age. Open Nurs J. 2009;3:33-8.
 9. Lemancewicz A, Urban R, Urban J, et al. Evaluation of interleukin concentrations in amniotic fluid in preterm and term parturition and in oligohydramnios. Med Sci Monit. 2001;7:924–927.
 10. Oppenheimer L, and the Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada. Diagnosis and management of placenta previa. J Obstet Gynaecol Can. 2007;29:261-266.
 11. Wehrum MJ, Buhimschi IA, Salafia C Accreta complicating complete placenta previa is characterized by reduced systemic levels of vascular endothelial growth factor and by epithelial-to-mesenchymal transition of the invasive trophoblast. Am J Obstet Gynecol. 2011 May;204(5):411.e1-411.e11.

INCIDENȚA COMPLICAȚIILOR ÎN SARCINA OBȚINUTĂ PRIN METODA FIV LA GRAVIDELE PESTE 35 ANI

Aliona Dobrovolskaia-Catrinici, Veaceslav Moșin

Catedra Obstetrica și Ginecologia USMF „Nicolae Testemițanu”
Centrul de Sănătate a Reproduserii și Genetică Medicală

Summary

The incidence of complications in pregnancy obtained by the IVF method in women over 35 years

The quality of the IVF (in vitro fertilization) outcome in pregnancy is proportional to the overall condition of the pregnant. Such careful prenatal monitoring and forecast risks in pregnancy could improve the features complications that compromise the evolution of pregnancy in women over 35 age, especially obtained by IVF method. The aim is to assess the incidence of complications in pregnancy obtained by IVF method compared to the control group. Analysing the incidence of complications in pregnancy of 218 subjects, of which 167 with spontaneously conceived pregnancy (group I) and 51 of pregnancy conceived through IVF (group II) we found that both groups shows appropriate similar dynamic of gestation with the exception of mode of delivery by caesarean section where was about 84% in the IVF group vs 23.3% in the control group.

Rezumat

Calitatea evoluției sarcinii obținute prin metoda FIV (fertilizării in vitro) este direct proporțională cu starea generală a gestantei. Astfel monitorizarea prenatală minuțioasă și pronosticul riscurilor în sarcină ar putea ameliora particularitățile complicațiilor ce compromit o sarcină la gravidele peste 35 de ani, mai cu seamă obținută prin metoda FIV. Scopul studiului este de a evolua incidența complicațiilor în sarcina obținută prin metoda FIV în raport cu grupul