

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE DIN CRAIOVA

ȘCOALA DOCTORALĂ

**CONTRIBUȚII LA STUDIUL IMPLICĂRII
TROMBOFILIEI ÎN MORBIDITATEA
MATERNO-FETALĂ**

TEZĂ DE DOCTORAT

REZUMAT

Conducător științific

Prof. Univ. Dr. Sabina BERCEANU

Student doctorand

Elena Loredana CIUREA (DUMITRACHE)

CRAIOVA

2019

CUPRINS

PARTEA GENERALĂ

| | |
|--|---|
| 1. CONSIDERAȚII GENERALE PRIVIND HEMOSTAZA FIZIOLOGICĂ..... | 2 |
| 2. TROMBOFILIIILE EREDITARE ȘI STAREA GE GESTAȚIE..... | 2 |
| 3. TROMBOFILIIILE DOBÂNDITE ȘI SARCINA..... | 2 |
| 4. PATOLOGIA TROMBOFILICĂ ASOCIATĂ SARCINII..... | 2 |
| 5. ASPECTE MORFOLOGICE NORMALE ȘI PATOLOGICE ALE INTERFEȚEI MATERNO-FETALE..... | 3 |
| 6. ASPECTE ULTRASONOGRAFICE ÎN COMPLICAȚIILE MATERNO-FETALE MEDIATE DE PLACENTĂ ÎN CONTEXTUL TROMBOFILIEI..... | 3 |

PARTEA SPECIALĂ

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUCERE..... | 4 |
| 1.1. OBIECTIVELE STUDIULUI..... | 4 |
| 2. MATERIAL ȘI METODĂ..... | 4 |
| 2.1. STUDIUL CLINIC..... | 5 |
| 2.2. STUDIUL ULTRASONOGRAFIC..... | 6 |
| 2.3. STUDIUL MORFOLOGIC AL PLACENTEI ȘI CORDONULUI OMBILICAL..... | 7 |
| 2.3.1. Studiul morfologic macroscopic al placentei și cordonului ombilical..... | 7 |
| 2.3.2. Studiul morfologic microscopic al placentei..... | 7 |
| 2.3.3. Studiul imunohistochimic..... | 8 |
| 3. REZULTATE..... | 8 |
| 4. DISCUȚII..... | 10 |
| 5. CONCLUZII..... | 12 |
| 6. BIBLIOGRAFIE..... | 13 |

CUVINTE CHEIE: TROMBOFILIE, COMPLICAȚII GESTAȚIONALE MEDIATE DE PLACENTĂ, ULTRASONOGRAFIE, MORFOLOGIE, IMUNOHISTOCHEMIE, TERAPIE INDIVIDUALIZATĂ, ANALIZĂ INTEGRATIVĂ.

PARTEA GENERALĂ

1. CONSIDERAȚII GENERALE PRIVIND HEMOSTAZA FIZIOLOGICĂ

Sarcina normală reprezintă o stare de hipercoagulabilitate fiziologică în care sunt implicate modificări complexe ale echilibrului fluido-coagulant al sângelui, de la hemostaza primară până la fibrinoliză și mecanisme anticoagulante naturale [1].

Sarcina este asociată cu modificări semnificative ale valorilor factorilor de coagulare. Concentrația de fibrinogen se dublează, și au fost observate creșteri de 20-1000% ale factorilor VII, VIII, IX, X, XII, von Willebrand, cu valori maxime înregistrate la termen [2].

Markerii de activare ai coagularii în sarcina normală sunt evidențiați prin activitatea crescută a trombinei, creșterea valorilor de fibrină solubilă și valori crescute ale fibrinei D [3].

În fiecare dintre cele trei trimestre ale sarcinii se produc modificări în cadrul sistemului hemostatic al gravidei [4].

Formarea cheagurilor trombocitare presupune trei etape, respectiv adeziunea, activarea și agregarea trombocitelor. Secundar leziunii vasculare, trombocitele aderă la colagenul subendotelial, prin intermediul punților factorului von Willebrand. Acesta este ancorat la un capăt de colagenul subendotelial, iar la celălalt capăt de receptorii trombocitari GPIb/IX/V [5].

2. TROMBOFILIIILE EREDITARE ȘI STAREA DE GESTAȚIE

Trombofiliile ereditare sunt anomalii genetice asociate cu tulburări ale hemostazei ce induc o probabilitate crescută de apariție a evenimentelor trombotice, venoase și arteriale, care împreună cu statusul procoagulant din sarcină, cresc riscul de apariție a trombozelor la aceste persoane [6].

Cele mai frecvente tipuri de trombofilie ereditară sunt: mutația factorului V Leiden [7], mutația genei pentru antitrombina III, deficite genetice ale proteinei C, S și antitrombinei III [8]. Peste 50 % din evenimentele trombotice venoase materne sunt datorate acestor anomalii genetice, altfel spus jumătate din evenimentele trombotice ce apar pe parcursul sarcinii au ca factor determinant sau adjuvant prezența unei trombofilii [8].

3. TROMBOFILIIILE DOBÂNDITE ȘI SARCINA

Cea mai cunoscută trombofilie dobândită, cu importanță mare în cazul gravidelor, este sindromul antifosfolipidic [9, 10].

Sindromul antifosfolipidic afectază direct trofoblastul încă din primul trimestru de sarcină, datorită factorilor procoagulanți. Aceștia inhibă beta-2-glicoproteina, proteina C și a antitrombinei, favorizează beta-2-glicoproteinei I și a protrombinei la membranele celulare [11].

4. PATOLOGIA TROMBOFILICĂ ASOCIATĂ SARCINII

Pe perioada stării de gestație, potențialul trombogen al bolilor moștenite sau dobândite, se datorește stării de hipercoagulabilitate indusă de modificările fiziologice ca însoțesc sarcina [12].

Pierderile recurente de sarcină se referă la trei sau mai multe sarcini pierdute cu vârstă gestațională sub 20 săptămâni sau cu o greutate a produsului de concepție mai mică de 500 grame [13].

Numeroase studii au evaluat relația dintre factorul V Leiden heterozigot și preeclampsia severă. Factorul V Leiden a fost identificat la 4.5-26% dintre pacientele cu preeclampsie severă, eclampsie sau sindrom HELLP [15-17].

Într-un studiu sistematic recent, factorul V Leiden și mutația genei protrombinei au fost asociate cu un risc crescut de RCIU [9].

Mortalitatea fetală asociată trombofiliei reprezintă o provocarea a obstetricii moderne și totodată o sursă inepuzabilă de noțiuni medicale ce trebuie comparate și standardizate.

5. ASPECTE MORFOLOGICE NORMALE ȘI PATOLOGICE ALE INTERFEȚEI MATERNO-FETALE

Diferite ghiduri recomandă ca fiecare placentă să fie, postpartum, examinată de către medicul obstetrician. Sunt situații când este necesar ca placenta să fie examinată de către medicul anatomo-patolog, dar nu există recomandări ca toate placentele să fie trimise pentru examinare către această specialitate [17, 18].

Tehnicile de examinare macroscopică a placentei includ analiza sistematică a suprafețelor placentare fetală și maternă, a discului placentar și a țesutului vilozitar, a membranelor extraplacentare și a cordonului ombilical [18, 19].

Examinarea macroscopică a placentei poate fi făcută imediat după expulzia placentei, după refrigerarea acesteia sau după fixarea în formol.

Examinarea microscopică a placentei se efectuează după fixare, secționare și colorare [18, 19].

6. ASPECTE ULTRASONOGRAFICE ÎN COMPLICAȚIILE MATERNO-FETALE MEDIATE DE PLACENTĂ ÎN CONTEXTUL TROMBOFILIEI

Datarea prenatală certă a tuturor sarcinilor reprezintă procesul cheie în depistarea viitorilor feților cu restricție de creștere intrauterină. Astfel evaluarea ecografică impune trei etape succesive: datarea sarcinii, evaluarea biometrică fetală și evaluarea creșterii ca normală sau anormală [20].

Modificările fluxurilor pe artera ombilicală, cu scăderea vitezelor diastolice și creșterea indicilor de pulsilitate și rezistență, se datorează vasoconstricției vilozităților terțiare. Vitezele diastolice devin absente sau chiar inversate în stadii avansate ale leziunilor funcționale și histologice placentare [21, 22].

ACM este considerată standardul pentru evaluarea centralizării fluxului sanguin la feții cu insuficiență placentară. Indice de pulsilitate (IP) la nivelul ACM scade constant la feții cu insuficiență placentară și prematuritate, sugerând o redistribuție progresivă a sângelui fetal spre organe vitale [23].

PARTEA SPECIALĂ

1. INTRODUCERE

Teza de doctorat își propune să evalueze locul trombofiliei în obstetrica modernă, implicarea acestei deviații a coagulostatului în morbiditatea materno-fetală, având ca direcții principale de cercetare, complicațiile perinatale mediate de placentă în contextul trombofiliei.

Prin prisma rolului de interfață materno-fetală, placenta este implicată indubitabil, atât morfologic cât și funcțional, în patofiziologia unor entități precum avorturile recurente, preeclampsia-eclampsia, RCIU, moartea fetală in utero sau nașterea prematură electivă.

Ceea ce m-a determinat să aleg această perspectivă de cercetare a fost pe de o parte frecvența trombofiliei întâlnită în obstetrică, iar pe de altă parte complicațiile materno-fetale, uneori catastrofice generate de această patologie. Lucrarea de doctorat îmbracă un caracter interdisciplinar, studiul necesitând colaborarea între medicul obstetrician, laboratorul de analize medicale performant, medicul hematolog, precum și medici din alte specialități, așa cum sunt medicina internă, imagistica medicală, cardiologia, neurologia sau anatomia patologică.

1.1. OBIECTIVELE STUDIULUI

În cadrul cercetării doctorale mi-am propus să studiez pe de o parte, necesitatea screening-ului trombofiliilor ereditare sau dobândite cât mai devreme în sarcină sau la consultul preconcepțional la pacientele cu antecedente personale și heredo-colaterale semnificative în acest sens, iar pe de altă parte modul în care se poate identifica precoce apariția modificărilor ce pot duce la avorturi recurente, preeclampsie-eclampsie, RCIU, moarte fetală in utero sau imperiozitatea nașterii premature electivă.

Un alt obiectiv principal al studiului meu este reprezentat de analizarea opțiunilor de management materno-fetal în trombofiliile obstetricale, impactul acestei patologii asupra structurii placentare și posibilele corelații cu complicațiile gravidice mediate de placentă.

De asemenea, mi-am propus ca în cadrul acestei lucrări să elaborez în prima etapă un studiu clinic, cu scopul de a căuta corelații privind influența patologiei trombofilice asupra sarcinii în general și asupra structurii trofoblastice sau placentare în special. În cea de-a doua etapă a cercetării am avut ca și obiectiv principal studierea impactului condițiilor clinice asociate trombofiliilor materne asupra placentei și anexelor fetale, prin analiza și corelarea acestuia cu studiul ultrasonografic, morfologic macroscopic, microscopic și imunohistochimic al structurii placentare. În ultima etapă de studiu mi-am propus abordarea integrată a acestor obiective, pentru a avea o perspectivă cât mai exstinsă cu privire la managementul materno-fetal în contextul complicațiilor perinatale asociate cu trombofilia și mediate de placentă.

2. MATERIAL ȘI METODĂ

Studiul doctoral retrospectiv și prospectiv, observațional-descriptiv a fost realizat pe perioada Ianuarie 2014 - Iunie 2019, pe un lot constituit din 473 paciente gravide selectate, diagnosticate cu trombofilie (TG). De asemenea a fost constituit și

un al doilea lot de paciente, însumând un număr de 317 gravide non-trombofilice (nTG) cu sau fără complicații gravidice mediate de placentă. Toate pacientele incluse în studiu au fost testate pentru trombofilie, fie de rutină, fie luând în considerare istoricul obstetrical al acestora.

Pacientele incluse în lotul de studiu au fost cauziene, cu vârsta medie 30 de ani (17-43 de ani).

În urma aplicării criteriilor de includere/ excludere, în lotul TG au fost menținute 439 paciente, 34 fiind excluse.

2.1. STUDIUL CLINIC

Prin prisma studiului clinic au fost luate în considerație următoarele variabile, prezentate în **Tabelul 1**.

Tabelul 1. Caracteristici clinice TG și nTG

| Caracteristici clinice și condiții asociate | TG - n (%) | nTG - n (%) |
|---|---------------|--------------|
| Vârsta | 30 (± 13) | 31 (± 13) |
| Sarcină unică | 432 (98.4) | 307 (96.84) |
| Sarcină multiplă | 7 (1.59) | 10 (3.15) |
| Hipertensiune | 28 (6.37) | 36 (11.35) |
| Preeclampsie* | 96 (21.96) | 49 (15.45) |
| Diabet** | 2 (0.45) | 2 (0.63) |
| Obezitate | 144 (32.8) | 139 (43.84) |
| Fumat | 21 (4.78) | 28 (8.83) |
| Avorturi ±recurente | 139 (31.66) | 55 (17.35) |
| <i>O sarcină pierdută</i> | 64 (14.57) | 29 (9.14) |
| <i>Două sarcini pierdute</i> | 39 (8.88) | 18 (5.67) |
| <i>Trei sarcini pierdute</i> | 25 (5.69) | 8 (2.52) |
| <i>> 3 sarcini pierdute</i> | 11 (2.5) | - |
| Morbiditate gravidică (Sindrom de dispariție embrio-fetală) | 3 (0.68) | 2 (0.63) |
| Moartea fetală intrauterină (± antecedente) | 19 (4.32) | 2 (0.63) |
| Istoric de infertilitate | 116 (26.42) | 72 (22.71) |
| Nașterea prematură | 102 (23.23) | 58 (18.29) |
| RCIU | 107 (24.37) | 27 (8.51) |
| Antecedente de tromboză | 19 (4.32) | - |
| Tipul de naștere | | |
| <i>Naștere vaginală</i> | 211 (48.06) | 183 (57.72) |
| <i>Operație cezariană</i> | 228 (51.93) | 134 (42.27) |
| Vârsta gestațională la care a survenit avortul | | |
| <i>≤ 9sg^(+6 zile)</i> | 41 (9.33) | 21 (6.62) |
| <i>10-14 sg</i> | 98 (22.32) | 34 (10.72) |
| Greutatea fetală la naștere | 2615 (± 1005) | 2985 (± 935) |
| Malformații uterine asociate | 41 (9.33) | 24 (7.57) |
| <i>Uter arcuat</i> | 19 (4.32) | 17 (5.36) |
| <i>Uter parțial septat</i> | 6 (1.36) | 1 (0.31) |
| <i>Uter bicornuat</i> | 4 (0.91) | - |
| <i>Uter didelf</i> | 5 (1.13) | - |
| <i>Uter unicornuat</i> | 7 (1.59) | 6 (1.89) |

n - număr de cazuri; TG - grupul de paciente cu trombofilie; nTG - grupul de paciente non-trombofilice
 * Preeclampsia - tensiunea arterială < 140/90 mmHg la primul consult prenatal (trimestrul I), hipertensiune și proteinurie (≥ 0.3 g proteine/24h) după 20 de săptămâni gestaționale;
 ** Diabet gestațional, tip 1 sau tip 2.

Testele pentru trombofilie utilizate pe loturile de studiu sunt prezentate în tabelul 2.

Tabelul 2. Teste pentru trombofilie utilizate în funcție de lotul de studiu

| Teste și markeri pentru trombofilie | TG (n/ %) | nTG (n/ %) |
|---|-------------|------------|
| Trombofilie screening (Proteina C, Proteina S, Anticoagulant lupic, Antitrombina III, Anticorpi anticardiolipinici IgG, IgM, Anticorpi anti-beta 2 glicoproteina 1 – IgA, IgG, IgM) | 439 (100) | 317 (100) |
| Trombofilie ereditară (Antitrombina III, Proteina C, Proteina S, Mutația Factorului V Leiden, Mutația Factorului II, Gena MTHFR) | 391 (89.06) | 27 (8.51) |
| SAFLO (Anticorpi Anticardiolipinici, Anticoagulantul lupic, Anticorpi Anti- β 2-glycoproteina I, Ig A, Ig G, IgM) | 82 (18.67) | 39 (12.3) |
| Mutația Factorului XIII | 34 (7.74) | 13 (4.1) |
| Gena Inhibitorului Activatorilor Plasminogenului PAI | 58 (13.21) | 5 (1.57) |
| Receptorul endotelial al Proteinei C | 198 (45.1) | 29 (9.14) |
| n - număr de cazuri; TG - grupul de paciente cu trombofilie; nTG - grupul de paciente non-trombofilice; SAFLO - Sindrom Antifosfolipidic obstetrical. | | |

2.2. STUDIUL ULTRASONOGRAFIC

Evaluarea US a cazurilor din lotul de studiu a fost efectuată atât prin tehnici convenționale 2D, cât și prin tehnici 3D sau tomografie ultrasonografică, precum și prin analiza Doppler spectral, color sau power Doppler (Voluson 730 Pro, Voluson E6, Logiq, echipate cu sondele RAB4-8L, RAB4-8D și RIC5-9-D, GE Healthcare și echipamentul US Samsung H60 echipat cu transductor CV1-8AD, Samsung Medison).

Evaluarea US obstetricală a inclus morfologia fetală și biometria, precum și evaluarea placentară, a cordonului ombilical și a lichidului amniotic, profilul Doppler materno-fetal și, în cazul sarcinilor multiple, diagnosticul corionicității și amnionicității (Tabelul 3).

Tabelul 3. Studiul ultrasonografic obstetrical

| Examinarea US în trimestrul I | |
|--------------------------------|---|
| Confirmarea fătului viu | ▪ evidențierea băților cordului fetal; |
| Sarcina multiplă | ▪ evaluarea corionicității și amnionicității. |
| Determinarea VG | ▪ CRL. |

| | |
|--|--|
| Anatomia fetală | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Capul fetal; ▪ Fața fetală; ▪ Gâtul fetal - NT; ▪ Toracele fetal; ▪ Cordul fetal; ▪ Peretele abdominal; ▪ Coloana vertebrală; ▪ Membrele; ▪ Placenta; ▪ Cordonul ombilical; ▪ Colul uterin - lungimea canalului cervical. |
| Examinarea US în trimestrul al II-lea | |
| Confirmarea fătului viu | <ul style="list-style-type: none"> ▪ evidențierea bătailor cordului. |
| Sarcina multiplă | <ul style="list-style-type: none"> ▪ evaluarea corionicității și amnionicității. |
| Anatomia fetală | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Capul fetal; ▪ Gâtul fetal; ▪ Coloana vertebrală; ▪ Toracele fetal; ▪ Cordul fetal; ▪ Abdomenul fetal - AC; ▪ Membrele – FL; ▪ Organele genitale externe; ▪ Anexele fetale: <ul style="list-style-type: none"> ○ Placenta; ○ Cordon ombilical; ○ LA - AFI. |

2.3. STUDIUL MORFOLOGIC AL PLACENTEI ȘI CORDONULUI OMBILICAL

2.3.1. Studiul morfologic macroscopic al placentei și cordonului ombilical

Suprafețele placentare, maternă și fetală, au fost analizate sistematic după spălarea blândă prealabilă a acestora cu apă sterilă, pentru îndepărtarea potențialelor depuneri artefactuale. Studiul macroscopic a fost efectuat pe specimene proaspete, imediat după prelevare și spălare cu apă sterilă, sau după refrigerarea acestora pentru 24-48 de ore.

Anomaliile macroscopice căutate au fost reprezentate infarctul placentar, depunerea perivilozitară de fibrină, tromboza intervilozitară, tromboza cordonului ombilical, numărul de vase de la nivelul cordonului ombilical, hiperspiralarea cordonului ombilical, nodul adevărat de cordon, lipsa spiralării cordonului ombilical sau lungimea excesivă.

2.3.2. Studiul morfologic microscopic al placentei

În cadrul studiului morfologic microscopic au fost analizate speci­me­nele tisulare provenite din secțiuni placentare longitudinale de 3-5 cm grosime care au fost fixate în prealabil în soluție de formaldehidă neutră 10%, la temperatura ambian­tală, incluse ulterior la parafină după protocolul histopatologic, în secțiuni de 2/ 2 cm.

2.3.3. Studiul imunohistochimic

Spectrul anticorpilor utilizați este prezentat în **tabelul 4**.

Tabelul 4. Anticorprii utilizați pentru tehnica imunohistochimică

| Anti-corpul | Producător | Clona | Demascarea antigenică | Anticorpul secundar | Diluția | Marcajul |
|------------------------|------------|-----------|-----------------------|---|---------|---|
| Anti-CD34 | Dako | QBE nd 10 | Citrat, pH 6 | Monoclonal mouse anti-human CD34 Class II | 1:50 | <i>Celulele endoteliale ale vaselor de neo-angio-geneză</i> |
| Anti-αSMA | Dako | 1A4 | Citrat, pH 6 | Monoclonal Mouse Anti-Human Smooth Muscle Actin | 1:100 | <i>Alfa actina mușchiului neted, fibroblaști</i> |
| Anti-Ki67 | Dako | MIB-1 | EDTA, pH 9 | Monoclonal Mouse Anti-Human Ki67 | 1:50 | <i>Celule aflate în diviziune</i> |
| Anti-Colagen IV | Dako | CIV22 | Citrat, pH 6 | Monoclonal Mouse Anti-Human Collagen IV | 1:50 | <i>Membrane bazale</i> |

3. REZULTATE

Rezultatele testelor biologice efectuate au demonstrat că din totalul de 439 de cazuri incluse în TG, 357 (81.32%) de cazuri au reprezentat trombofilii ereditare, 79 (17.99%) dintre acestea au fost trombofilii dobândite, iar un număr de 3 (0.68%) cazuri au avut rezultat echivoc (ereditar/ domândit), fiind vorba despre prezența homocisteinei (**Tabelul 5**).

Tabelul 5. Tipuri de trombofilii și markeri specifici

| Trombofilii ereditare | TG (n = 357) |
|----------------------------------|--------------|
| Antitrombina III - deficit | 41 (9.33) |
| Proteina C - deficit | 14 (3.18) |
| Proteina S - deficit | 123 (28.01) |
| Mutația EPCR - heterozigot | 212 (48.29) |
| Mutația EPCR - homozigot | 21 (4.78) |
| Factor V Leiden - heterozigot | 27 (6.15) |
| Factor V Leiden - homozigot | 7 (1.59) |
| Protrombina 20210A - heterozigot | 20 (4.55) |
| Protrombina 20210A - homozigot | 6 (1.36) |
| MTHFR C677T - heterozigot | 130 (29.61) |

| | |
|---|--------------------|
| MTHFR C677T - homozigot | 40 (9.11) |
| MTHFR A1298C - heterozigot | 144 (32.8) |
| MTHFR A1298C - homozigot | 19 (4.32) |
| Polimorfismul genei PAI-1 4G/5G - heterozigot | 199 (45.33) |
| Polimorfismul genei PAI-1 4G/5G - homozigot | 14 (3.18) |
| Mutația factorului XIII - heterozigot | 75 (17.08) |
| Mutația factorului XIII - homozigot | 20 (4.55) |
| Trombofilii dobândite | TG (n = 79) |
| Anticoagulant lupic | 68 (15.48) |
| ACA | 55 (12.52) |
| Anticorpi Anti-β2-glycoproteina I | 62 (14.12) |
| Trombofilii ereditare/ dobândite | TG (n = 3) |
| Homocisteina | 3 (0.68) |

Analiza macroscopică a placentelor și cordonelor ombilicale a arătat că majoritatea modificărilor morfologice sunt mai frecvente în lotul TG, sugerând astfel implicarea trombofililor în patogeneza complicațiilor gravidice mediate de placenta (**Tabelul 6**).

Tabelul 6. Studiul macroscopic al placentei și cordonului ombilical

| Studiul macroscopic al placentei și cordonului ombilical | TG (n = 439) | nTG (n = 317) |
|--|--------------|---------------|
| Infarct placentar n (%) | 129 (29.38) | 78 (24.6) |
| Depunere perivilozitară de fibrină n (%) | 109 (24.82) | 54 (17.03) |
| Tromboză/ trombi intervilozitari n (%) | 63 (14.35) | 21 (6.62) |
| Cordon ombilical bivascular n (%) | 3 (0.68) | 2 (0.63) |
| Tromboza cordonului ombilical n (%) | 39 (8.88) | 7 (2.2) |
| Cordon hiperspiralat n (%) | 41 (9.33) | 36 (11.35) |
| Cordon cu spiralare redusă/ absentă n (%) | 2 (0.45) | 6 (1.89) |
| Nod adevărat de cordon n (%) | 3 (0.68) | 8 (2.52) |
| Cordon cu lungime normală n (%) | 254 (57.85) | 211 (66.56) |
| Cordon cu lungime excesivă n (%) | 101 (23) | 62 (19.55) |
| Cordon scurt n (%) | 84 (19.13) | 44 (13.88) |

Rezultatele studiului meu, prin prisma modificărilor placentare histologice și imunohistochimice, se configurează într-un spectru de nouă constatări microscopice, descrise în **tabelul 7**.

Tabelul 7. Constatări morfopatologice placentare

| Studiul microscopic al placentei. Constatări morfopatologice placentare | TG (n = 439) | nTG (n = 317) |
|--|--------------|---------------|
| Necroza fibrinoidă n (%) | 329 (74.94) | 193 (60.88) |
| Infarct placentar n (%) | 130 (29.61) | 57 (17.98) |
| Tromboza placentară n (%) | 175 (39.86) | 65 (20.5) |
| Fibroza intravilozitară n (%) | 219 (49.88) | 119 (37.53) |
| Fibroza interviloasă n (%) | 312 (71.07) | 196 (61.82) |
| Degenerescenta hialină focală n (%) | 241 (54.89) | 98 (30.91) |
| Calcificări placentare n (%) | 139 (31.66) | 59 (18.61) |
| Vasculopatie deciduală n (%) | 39 (8.88) | 16 (5.04) |
| Noduri sincițiale n (%) | 30 (6.83) | 9 (2.83) |

Terapia specifică trombofiliilor obstetricale incluse în studiul meu a inclus, sub diferite scheme de tratament acidul acetilsalicilic, heparine cu greutate moleculară mică, acid folic și suplimente conținând Vitamina B6 și B12 (**Tabelul 8**).

Tabelul 8. Terapia specifică trombofiliilor obstetricale

| | |
|---|-------------|
| Acid acetilsalicilic (75-100 mg o dată pe zi) | |
| Preconcepțional | 110 (25.05) |
| < 24 săptămâni gestaționale | 321 (73.12) |
| < 36 săptămâni gestaționale | 107 (24.37) |
| > 36 săptămâni gestaționale | 75 (17.08) |
| Acid folic (1-5 mg o dată pe zi) | |
| Preconcepțional | 127 (28.92) |
| Trimestrul I | 409 (93.16) |
| > Trimestrul I | 212 (48.29) |
| Vitamina B6 (suplimente) | 268 (61.04) |
| Vitamina B12 (suplimente) | 268 (61.04) |
| Heparină cu greutate moleculară mică (LMWH) | |
| Enoxaparin 40 mg (0.4 ml) subcutanat o dată pe zi (<i>CLEXANE</i> [®]) | 132 (30.06) |
| Enoxaparin 20 mg (0.2 ml) subcutanat o dată pe zi (<i>CLEXANE</i> [®]) | 51 (11.61) |
| Dalteparin 5000 UI subcutanat o dată pe zi (<i>FRAGMIN</i> [®]) | 62 (14.12) |
| Nadroparin 3800 UI (0.4 ml) subcutanat o dată pe zi (<i>FRAXIPARINE</i> [®]) | 44 (10.02) |
| Tinzaparin 5000 UI subcutanat o dată pe zi (<i>INNOHEP</i> [®]) | 35 (7.97) |

4. DISCUȚII

Sarcina în sine reprezintă o stare de hipercoagulabilitate dobândită, cu o creștere a nivelurilor factorilor de coagulare și o scădere a activității fibrinolizei,

aceasta apărând în mod natural și predispunând la tromboză venoasă profundă, un argument în plus fiind adus și de faptul că întoarcerea venoasă încetinește, prin presiunea uterului în expansiune, favorizând staza [24].

Trombofilii materne, atât cele genetice, cât și cele dobândite, sunt asociate cu diferite rezultate perinatale adverse, incluzând aici tromboza venoasă profundă maternă, decolarea prematură de placentă, restricția de creștere intrauterină, pierderea de sarcină precoce și tardivă sau preeclampsia [25].

În ceea ce privește aceste aspecte, în acest studiu am constatat o incidență de 81% a trombofiliei ereditare, comparativ cu 18% trombofilii dobândite, respectiv aproape 1% trombofilii echivoce. Prin comparație cu studiul publicat [26] pe un lot intermediar, semnificativ mai redus față de lotul de studiu analizat la finalul cercetării doctorale, diferența este relativ semnificativă numai în cazul trombofiliei ce nu pot fi practic încadrate ca fiind strict ereditare respectiv dobândite.

Astfel, rezultatele prezentate în articolul respectiv [26], prezintă o incidență de 79.68% trombofilii ereditare vs. 81% în studiul de față, respectiv 17.18% vs. 18% trombofilii dobândite, iar diferența este semnificativă în cazul trombofiliei echivoce 3.12% vs. 0.68% în studiul final.

Aceste date sugerează faptul că în cadrul trombofiliei obstetricale ponderea dominantă este deținută de categoria trombofiliei ereditare.

Screening-ul trombofiliei în timpul sarcinii este o chestiune controversată, deoarece asocierea dintre trombofilie și complicațiile perinatale mediate de placentă, nu a fost demonstrată în mod clar [27].

Pe de altă parte însă, complicațiile gestaționale mediate de placentă, cum ar fi abruptio placentae, preeclampsia, restricția de creștere intrauterină, pierderea recurentă a sarcinii sau moartea fetală intrauterină sunt cauze semnificative ale morbidității materne și fetale [28].

Gils și colab. [27] consideră faptul că aceste complicații provin parțial din cauza trombozei în circulația placentară, care ar putea fi la rândul ei cauzată de trombofilie, crescând riscul de tromboză [27].

În ceea ce privește asocierea între trombofilie și complicațiile gestaționale mediate de placentă, în acest studiu am observat o creștere relativă a incidenței preeclampsiei (TG vs. nTG) (21.96% vs. 15.45%) sau a nașterii premature (23.23% vs. 18.29%) dar și o creștere semnificativă a RCIU (24.37% vs. 8.51%), avorturilor recurente (31.66% vs. 17.35%) sau a morții fetale intrauterine (4.32% vs. 0.63%), în grupul de paciente care asociază această afecțiune.

Greutatea fetală la naștere a fost relativ mai scăzută în grupul TG comparativ cu nTG, respectiv 2615 g (± 1005) vs. 2985 g (± 935), același aspect fiind observat și în cazul vârstei gestaționale la naștere, respectiv 33.5 sg (± 5.5) vs. 35 sg (± 6).

Prin comparație cu aceste date, *Gils și colab.* [27] raportează o incidență de 28% a preeclampsiei la pacientele diagnosticate cu trombofilie, 24% a RCIU sau de 16% în cazul morții fetale intrauterine.

Se consideră că patologia placentară provine din disfuncția dezvoltării placentare într-o secvență în două etape, ceea ce presupune eșecul invaziei trofoblastice, urmată de disfuncția endotelială sistemică, prin urmare în contextul complicațiilor gestaționale mediate de placentă, invazia trofoblastică superficială este evidentă, rezultând o rezistență vasculară placentară mai mare, scăderea perfuziei și ischemie placentară [29, 30].

În cazul complicațiilor gestaționale mediate de placentă, asociate trombofiliei materne, aceste aspecte ale disfuncției placentare au ca substrat modificările morfologice care survin la nivelul acesteia.

Din punct de vedere al analizei macroscopice a placentei, în cadrul studiului meu am constatat o incidență relativ crescută (TG vs. nTG) a infarctului placentar (29.38% vs. 24.6%), a depunerii perivlozitate de fibrină (24.82% vs. 17.03%) sau a lungimii excesive a cordonului ombilical (23% vs. 19.55%), dar și valori semnificativ crescute în lotul TG, așa cum a fost în cazul trombozei intervlozitate (14.35% vs. 6.62%) sau a trombozei cordonului ombilical (8.88% vs. 2.2%).

Raportat la studiul lui *Franco și colab.* [31], acesta constată faptul că 13% dintre placentele cu infarct documentat sunt asociate cu trombofilie maternă. În schimb, 62.3% dintre placentele studiate de către acești autori au prezentat caracteristici de placentăție anormală, fie prin dezvoltare, diferențiere sau ambele, iar 78.7% au prezentat marca subperfuziei vasculare materne, fără legătură cu infarctul propriu-zis [31].

Pe de altă parte însă, *Gogia și colab.* [25] prezintă prezența infarctului placentar în 40% dintre cazurile cu trombofilie și a depunerii perivlozitate de fibrină în 23% dintre acestea.

Aceste date sugerează faptul că prezentul studiu prezintă rezultate concordante cu cele ale autorilor menționați anterior.

În acest studiu, heparina cu greutate moleculară mică a fost utilizată în 324 (73.8%) dintre cazurile TG, alegerea substanței active fiind bazată pe experiența obstetricienilor, practica clinică și consultul hematologic, putând astfel afirma că rezultatul obstetrical este încurajator.

Acidul acetilsalicilic în doze mici, împreună cu heparina cu greutate moleculară mică sau singur, utilizat preconcepțional, în prima parte a sarcinii sau chiar până la finalul acesteia, aduce beneficii prognosticului materno-fetal în trombofilie în general și în sindromul antifosfolipidic obstetrical în mod special.

Mai mult decât atât, multiple studii până la acest moment au precizat că standardul actual de tratament în sindromul antifosfolipidic obstetrical se bazează în principal pe tratamentul antitrombotic și antiagregant, iar asocierea de acid acetilsalicilic în doze mici și heparină cu greutate moleculară mică a dus la atingerea unei rate de nașteri cu făt viu estimată la 70–80% [32-34].

Studiul de față are pe de o parte câteva puncte importante, dar și potențiale limite. Punctele forte ale studiului sunt reprezentate de analiza complexă și corelațiile obținute în trombofiliile asociate sau nu cu complicații gestaționale mediate de placentă, integrând într-o cercetare multidisciplinară date relevante privind screeningul și testarea pentru trombofilie, managementul terapeutic, morfologia placentară și rezultatul sarcinii. Fiind un studiu retrospectiv și prospectiv, observațional și descriptiv, acesta este limitat însă de anumite discordanțe în colectarea datelor, între loturile TG și nTG, iar acest fapt poate avea potențialul de a afecta puterea statistică a analizei noastre.

5. CONCLUZII

Acest studiu sugerează faptul că morbiditatea gestațională mediată de placentă survine cu o incidență relativ mai mare în trombofilie decât în cazurile nontrombofilice.

Datele din acest studiu susțin ipoteza conform căreia, pe lângă potențialul trombotic matern, trombofiliile obstetricale sunt asociate cu un risc crescut de complicații perinatale, respectiv restricția de creștere intrauterină, avorturile recurente, preeclampsia sau nașterea prematură.

Evaluarea sistematică fetală trebuie să monitorizeze profilul biometric și hemodinamic fetal și materno-fetal pentru a identifica posibila apariție a complicațiilor gestaționale mediate de placentă.

Anomaliile ultrasonografice ale profilului hemodinamic Doppler fetal și materno-fetal, sugestive sau relevante pentru instalarea sau agravarea complicațiilor gestaționale mediate de placentă, au ca și substrat modificările morfologice care implică alterarea angioarhitecturii placentare.

Statusul trombofilic impactează structura placentară cu precădere la nivelul angioarhitecturii acesteia.

Constatările morfologice microscopice de la nivelul structurii placentare și datele statistice din acest studiu sugerează faptul că patologia trombofilică maternă asociază diferite modificări care generează ischemie placentară prin alterarea endotelului matern, crescând astfel riscul de tromboză.

În contextul trombofiliei, asociată sau nu cu complicații gestaționale mediate de placentă, există mai degrabă o combinație de modificări morfologice, și mai puțin constatări specifice.

Analizând integrativ observațiile clinice, ultrasonografice Doppler, dar în mod special pe cele morfologice și imunohistochimice se poate profila un model morfologic placentar de tip trombofilic.

Spectrul modificărilor morfologice placentare este dependent de tipul de trombofilie, momentul diagnosticării acesteia și inițierea terapiei specifice, dar în egală măsură și de prezența complicațiilor gestaționale mediate de placentă, vârsta gestațională la care acestea sunt identificate sau managementul acestora.

Asocierea trombofiliilor obstetricale cu malformații uterine, ca și element de originalitate al acestui studiu, indică faptul că, în cazul acestor paciente riscul morbidității perinatale este relativ mai crescut, pe de o parte prin interferarea invaziei trofoblastice de la nivelul spectrului malformativ, iar pe de altă parte prin tulburările hematologice generate de trombofilie.

Terapia antitrombotică și/sau anticoagulantă trebuie administrată individualizat, fie preconcepțional, fie din momentul instalării stării de gestație și continuând ulterior, de asemenea diferențiat, până în trimestrul al doilea sau chiar până la finalul sarcinii, aceste aspecte fiind dictate în primul rând de diagnosticul exact al tipului de trombofilie.

Abordarea integrată a trombofiliilor obstetricale și a asocierii acestora cu complicațiile gestaționale mediate de placentă, în cadrul acestei cercetări clinice, ultrasonografice, morfologice și imunohistochimice asupra întregului sistem biologic tranzitoriu gestațional, poate aduce contribuții la studiul implicării trombofiliei în morbiditatea materno-fetală, atât din punct de vedere al screeningului, dar și al diagnosticului, managementului și prognosticului acestor sarcini cu risc obstetrical crescut.

6. BIBLIOGRAFIE

1. Coriu L., Coriu D. Boala tromboembolică și sarcina. In: Panaitescu A.M., Peltecu G., Afecțiuni medicale în sarcină, Ed. Academiei Române, 2017, p.153-168.
2. Bremme KA. Haemostatic change in pregnancy. *Best Pract Res Clin Haematol* 2003;16:153-168.
3. Anderson FA, Jr, Spencer FA. Risk factors for venous thromboembolism. *Circulation* 2003;107(23 Suppl.1):19-16.
4. Quack Loetscher KC, Stiller R, Roos M, et al. Protein Z in normal pregnancy. *Thromb Haemost* 2005;93:706-709.

5. Ruggeri ZM, Dent JA, Saldivar E. Contribution of distinct adhesive interactions to platelet aggregation in flowind blood. *Blood* 1999;94:172-178.
6. Ciurea EL, Berceanu Costin, Brătîlă E, Cîrstoiu MM, Bohîlțea RE, Berceanu S, Voicu LN, Mehedințu C. Maternal-fetal management and outcome in a case of uterine anatomic abnormality and obstetric antiphospholipid syndrome. *Revista Ginecologia* 2017, 5 (18): 12-16.
7. Dizon-Townson D, Miller C, Sibai B, Spong CY, Thom E, Wendel G Jr, Wenstrom K, Samuels P, Cotroneo MA, Moawad A, Sorokin Y, Meis P, Miodovnik M, O'Sullivan MJ, Conway D, Wapner RJ, Gabbe SG; National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. The relationship of the factor V Leiden mutation and pregnancy outcomes for mother and fetus. *Obstet Gynecol.* 2005;106(3):517-24.
8. Lockwood CJ. Inherited thrombophilias in pregnant patients. *Prenat Neonat Med* 2001;6:3-14.
9. Infante-Rivard C, Rivard GE, Yotov WV, et al. Absence of association of thrombophilia polymorphisms with intrauterine growth restrictions. *N Engl J Med* 2002;347:19-25.
10. Miyakis S., Lockshin M.D., Atsumi T. et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipidsyndrome (APS). *J Thromb Haemost,* 2006; 4(2):295-306.
11. Tănăsescu C. Sindromul antifosfolipidic, Ed. Academiei Romane, 2005, 83-328.
12. ACOG Practice Bulletin No.197: Inherited thrombophilias in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2018; 132:18-34.
13. Hoffman B., Schorge J., Schaffer J., Halvorson L., Bradshaw K., Cunningham F.G. (Ed), Vlădăreanu R. (Ed. ediția în limba română). *Williams Obstetrică*, Ed. Hipocrate, 2017, 1028-1050.
14. Dekker GA. Underlying disorders associated with severe early-onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:1042-1048.
15. Schlembach D. Association of maternal and/or fetal factor V Leiden and G20210A prothrombin mutation with HELLP syndrome and intrauterine growth restriction. *Clin Sci* 2003;105:279-285.
16. Kupfermanc MJ, Eldor A, Steinman N, et al. Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. *N Engl J Med* 1999;340:9.
17. Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, Spong CY, Dashe JS, Hoffman BL, Casey BM, Sheffield JS. (Radu Vlădăreanu - coordonatorul ediției în limba Română). *Williams Obstetrică Ediția a 24-a, Capitolul 6 - Anomalii placentare*, Ed. Hipocrate, 2017, 116-126.
18. Baergen RN, Benirschke K. The placenta, products of conception, and gestational trophoblastic disease. In: Silverberg GS, DeLellis RA, Frable WJ, LiVolsi VA, Wick MR (Eds.). *Silverberg's Principles and Practice of surgical pathology and cytopathology*, Fourth edition, Churchill Livingstone Elsevier, Philadelphia, 2006, 2063-2090.
19. Langston C, Kaplan C, Macpherson T, Mancini E, Peevy K, Clark B, Murtagh C, Cox S, Glenn G. Practice guideline for examination of the placenta: developed by the Placental Pathology Practice Guideline Development Task Force of the College of American Pathologists. *Arch Pathol Lab Med.* 1997; 121(5):449-76.
20. Kurjak A., Chervenak F., Vlădăreanu R. Donald School. *Tratat de Ultrasonografie în Obstetrică și Ginecologie*, Ed. Amaltea, 2012, 205-215.
21. Morrow R.J. , Adamson S.L., Bull S.B., et al. Effect of pacental embolization on the umbilical arterial velocity waveform in fetal sheep. *Am J Obstet Gynecol.* 1989;161(4):10055-60.
22. Thompson R.S., Trudinger B.J. Doppler waveform pulsatility index and resistance, pressure and flow in the umbilical placental circulation: an investigation using a mathematical model. *Ultrasound Med Biol.* 1990,16(5):449-58.
23. Hecher K., Bilardo C.M., Stigter R.H. et al. Monitoring of fetuses with intrauterine growth restriction: a longitudinal study. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2001;18(6):564-70.
24. Mitranovici MI, Puscasiu L, Craina M, Iacob D, Chiriac VD, Ionita I, Moleriu RD, Furau G, Sisu A, Petre I. The Role of Low Molecular Weight Heparin in Pregnancies of Patients with Inherited Thrombophilia that Have Presented (and) Thrombotic Complications During Previous Pregnancies. *Rev.Chim (Bucharest)* 2017; 69(12): 2970-2973.
25. Gogia N, Machin GA. Maternal thrombophilias are associated with specific placental lesions. *Pediatr Dev Pathol.* 2008; 11(6):424-9.

26. Berceanu C, Ciurea EL, Cirstoiu MM, Berceanu S, Ofiteru AM, Mehedintu C, Berbece IS, Ciortea R, Stepan AE, Balseanu TA. Maternal-Fetal Management in Trombophilia Related and Placenta-Mediated Pregnancy Complications. *Rev.Chim.(Bucharest)* 2018, 69(9): 2396-2401.
27. Gils C, Nybo M. Thrombophilia prevalence among women with placenta-mediated pregnancy complications. *Int J Gynaecol Obstet.* 2016; 134(2):156-9.
28. Rodger MA. An update on thrombophilia and placenta mediated pregnancy complications: what should we tell our patients? *Thromb Res* 2013; 131(Suppl. 1): S25–7.
29. Duffett L, Rodger M. LMWH to prevent placenta-mediated pregnancy complications: an update. *Br J Haematol.* 2015; 168(5):619-38.
30. Khong Y, Brosens I. Defective deep placentation. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2011; 25(3):301-11.
31. Franco C, Walker M, Robertson J, Fitzgerald B, Keating S, McLeod A, Kingdom JC. Placental infarction and thrombophilia. *Obstet Gynecol.* 2011; 117(4):929-34.
32. Espinosa G., Cervera R. Current treatment of antiphospholipid syndrome: lights and shadows. *Nat Rev Rheumatol,* 2015;11(10):586-96.
33. Bouvier S., Cochery-Nouvellon E., Lavigne-Lissalde G., et al. Comparative incidence of pregnancy outcomes in treated obstetric antiphospholipid syndrome: the NOH-APS observational study. *Blood,* 2014;123(3):404-13.
34. Schreiber K, Radin M, Sciascia S. Current insights in obstetric antiphospholipid syndrome. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2017; 29(6):397-403.