



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POS DRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OIPOSDRU



UNIVERSITATEA
DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
DIN CRAIOVA

Investește în oameni!

FONDUL SOCIAL EUROPEAN
Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane
2007–2013

Axa prioritară 1

**„Educația și formarea profesională în sprijinul creșterii
economice și dezvoltării societății bazate pe cunoaștere”**

Domeniul major de intervenție 1.5

„Programe doctorale și postdoctorale în sprijinul cercetării”

Titlul proiectului

***„Creșterea calității și vizibilității rezultatelor cercetării științifice
a doctoranzilor cu frecvență prin acordarea de burse doctorale”***

Contract nr: POSDRU/107/1.5/S/82705

Beneficiar

Universitatea de Medicină și Farmacie din Craiova

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE DIN CRAIOVA

FACULTATEA DE MEDICINĂ

TEZĂ DE DOCTORAT

**Conducător științific:
Prof. Univ. Dr. Liliana Novac**

**Doctorand:
Popa Denissa-Greta**

**CRAIOVA
2014**

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE DIN CRAIOVA

FACULTATEA DE MEDICINĂ

**IMPLICAREA STRESSULUI OXIDATIV ÎN PATOLOGIA RETINIANĂ
DIN SARCINA COMPLICATĂ CU PREECLAMPSIE**

**Conducător științific:
Prof. Univ. Dr. Liliana Novac**

**Doctorand:
Popa Denissa-Greta**

**CRAIOVA
2014**

CUPRINS

INTRODUCERE.....	2
PARTEA GENERALĂ.....	2
STUDIUL PERSONAL	
1. OBIECTIVE.....	4
2. MATERIAL ȘI METODĂ.....	5
3. REZULTATE.....	5
4. DISCUȚII.....	8
5. CONCLUZII.....	10
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ.....	11

CUVINTE CHEIE:

stress oxidativ, preeclampsie, retinopatie hipertensivă, 8-iso-PGF F2 α , histologie placentară

INTRODUCERE

Preeclampsia este o tulburare multisistemică care complică 3%-8% din sarcini în țările occidentale și constituie o sursă majoră de morbiditate și mortalitate la nivel mondial. În general, 10%-15% dintre decesele materne sunt direct asociate cu preeclampsia și eclampsia.

Deși mecanismul exact care duce la instalarea preeclampsiei continuă să fie slab definit, datorită intensei activități de cercetare științifică în acest domeniu, sunt descoperite noi perspective promițătoare cu fiecare studiu efectuat.

Preeclampsia și eclampsia au fost asociate cu retinopatie severă similară cu retinopatia hipertensivă, cu decolarea de retină, leziuni retiniene pigmentare opace și cecitate corticală. În timp ce cele mai multe paciente își recuperează vederea normală la câteva săptămâni de la naștere, unele rămân cu o serie de leziuni. Cecitatea permanentă datorată modificărilor vasculare retiniene este rară, fiind în general, reversibilă.

Stressul oxidativ poate contribui la generarea și/sau menținerea hipertensiunii prin intermediul unui număr de mecanisme posibile.

În plus, creșterea stressului oxidativ poate deteriora endoteliul vascular și poate afecta relaxarea dependentă de endoteliu crescând și activitatea vasculară contractilă. Toate aceste efecte asupra sistemului vascular pot explica cum stressul oxidativ poate provoca hipertensiune arterială.

Tratamentul prompt al sindromului preeclampsie-eclampsie, precum și nașterea fătului, duc la reducerea manifestărilor oculare și a sechelelor vizuale asociate cu această afecțiune.

PARTEA GENERALĂ

Incidența preeclampsiei la nivel global este cuprinsă între 10 și 15% din totalitatea sarcinilor. Multiplele criterii pentru diagnosticul de preeclampsie severă ilustrează natura multifocală a bolii. Identificarea femeilor cu risc crescut de dezvoltare a preeclampsiei s-a dovedit dificil de realizat și reprezintă subiectul a numeroase studii de cercetare în ultimul deceniu.

Sarcina este asociată cu o creștere a stressului oxidativ, iar o exagerare a daunelor oxidative este considerată ca fiind o componentă importantă a complicațiilor sarcinii, cum ar fi preeclampsia. Există însă câteva informații privind modificarea longitudinală a stressului oxidativ în timpul sarcinii. Rolul stressului oxidativ în placentă umană și complicațiile sarcinii reprezintă un domeniu de cercetare relativ recent, dar care se extinde cu rapiditate.

Retinopatia ischemică se dezvoltă atunci când fluxul de sânge retinian este insuficient pentru cerințele metabolice ale retinei, care reprezintă țesutul cu cele mai înalte cerințe de oxigen. Retinopatia hipertensivă reprezintă manifestarea oftalmologică a afectării de organ ce poate să apară ca și complicație a hipertensiunii arteriale sistemice. Deși denumirea implică doar afectarea retiniană, sunt observate atât modificări coroidiene cât și ale nervului optic, modificări ce depind de durata și severitatea hipertensiunii.

Un produs major al peroxidării lipidice este reprezentat de un grup de compuși denumiți uzual isoprostani. Isoprostanul este produs în principal prin oxidarea radicalilor liberi, oxidare mediată de omniprezentul acid gras, acidul arahidonic.

În contrast cu prostaglandinele sintetizate pe calea ciclooxigenazei, isoprostanul se formează in situ pe baza fosfolipidelor esterificate și este pus în forma liberă, probabil prin intermediul fosfolipazelor. În stressul oxidativ, formarea isoprostanilor depășește pe cea a prostaglandinelor COX-derivate.

În primul trimestru, crearea fluxului sanghin în spațiul intervilos este asociată cu o adevărată explozie a stressului oxidativ. Incapacitatea de a realiza o apărare eficientă împotriva antioxidanților, duce la pierderea sarcinii. În gestația avansată creșterea stressului oxidativ este întâlnită în sarcinile complicate cu diabet zaharat, RCIU și preeclampsie în asociere cu creșterea apoptozei trofoblastului și reactivitatea modificată a vascularizației placentare.

Deoarece există o corelație pozitivă între placentă și stressul oxidativ sistemic, este rezonabil să se presupună că acestea sunt procese conexe și că placenta ar putea elibera peroxizi lipidici în circulația maternă, care ar putea la rândul lor, contribui la disfuncția celulelor endoteliale materne.

CONTRIBUȚII PERSONALE

Scopul și obiectivele studiului

Tulburările hipertensive din timpul sarcinii afectează atât mama cât și fătul. Ochiul poate fi grav afectat ceea ce implică o atenție deosebită din partea unei echipe mixte interdisciplinare de obstetricieni și oftalmologi. Au fost raportate numeroase cazuri care au ilustrat punerea în pericol a condițiilor vizuale în cazul pacientelor cu preeclampsie și eclampsie.

Scopul acestui studiu a fost de a determina prevalența retinopatiei hipertensive, caracteristicile retinopatiei hipertensive și rezultatul vizual în tulburările hipertensive din sarcina complicată cu preeclampsie, în contextul prezenței stressului oxidativ.

Studiul prezentat este structurat în jurul a următoarelor obiective majore:

1. Evaluarea unor factori de risc implicați în apariția preeclampsiei la gravidele studiate.
2. Evaluarea modificărilor retiniene în funcție de parametrii cuantificați și corelarea acestora cu markeri ai stressului oxidativ.
3. Evaluarea relației dintre retinopatia hipertensivă și gradul de severitate al preeclampsiei, în contextul comparării acestora cu nivelul plasmatic al 8-iso-PG F2 α și de stabilire a prezenței stressului oxidativ.
4. Evaluarea paraclinică a evoluției sarcinii normale și a celei cu preeclampsie.
5. Evaluarea histologică a modificărilor placentare în concordanță cu prezența stressului oxidativ, statusul preeclamptic, evoluția modificărilor retiniene, având în vedere că s-a sugerat că modificările retiniene din preeclampsie pot indica, în mod indirect, nivelul statusului vascular placentar și, prin urmare, insuficiența placentară și greutatea fetală la naștere.

6. Evaluarea și compararea concentrației plasmatice a 8-iso-PG F2 α la femeile cu sarcini normotensive și sarcini cu preeclampsie.

MATERIAL ȘI METODĂ

Studiul prospectiv efectuat a cuprins un lot de 158 gravide studiate în perioada octombrie 2010 – martie 2013. Acesta s-a desfășurat în Clinica de Obstetrică și Ginecologie a Spitalului Clinic Municipal Filantropia și a Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova, Clinica de Oftalmologie a Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova.

Pentru o mai bună precizie a datelor calculate în cadrul studiului, am luat în considerare o serie de criterii de includere și criterii de excludere, studiul fiind astfel mai bine delimitat și centrat pe un anumit grup reprezentativ.

Preeclampsia a fost definită în conformitate cu criteriile ISSHP- International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy.

În studiul nostru am abordat doar cele 2 forme ale preeclampsiei, HTAG și preeclampsia (ușoară și severă), pentru a avea o mai bună reprezentare a cazurilor studiate.

De asemenea, am mai utilizat termenul de PE precoce și PE tardivă, referitor la momentul debutului PE. Acești termeni au fost introduși de ISSHP, pentru a diferenția PE precoce apărută la < 34 săptămâni de gestație și PE tardivă apărută la > 34 săptămâni de gestație.

Pe baza examinării oftalmoscopice a fundului de ochi, femeile preeclamptice cu retinopatie hipertensivă au fost împărțite în patru grupe, în funcție de sistemul de clasificare Keith-Wagener-Barker a modificărilor de la nivelul retinei.

Monitorizarea oftalmologică s-a efectuat periodic, pentru a decela evoluția leziunilor și a urmări în acest context evoluția clinică a gravidei cu preeclampsie, precum și răspunsul la tratamentul specific efectuat.

8-isoprostanul (8-iso-PGF F2 α), a fost propus ca marker al deficitului antioxidant și al stressului oxidativ. Kit-ul pentru determinarea 8-isoprostanului prin enzyme immunoassay produs de Cayman este un test competitiv ce poate fi folosit pentru dozarea 8-isoprostanului în plasmă, ser, urină și alte tipuri de probe. Limita de detecție a kit-ului este de 2,7 pg/ml.

Unul din obiectivele acestui studiu a fost de a determina prevalența rezultatelor histologice sugestive pentru perfuzia deficitară maternă a placentei, în contextul stressului oxidativ din preeclampsie.

Prelucrarea secundară a datelor, calcularea parametrilor statistici fundamentali, media și deviația standard, a raportului lor – coeficientul de variație și reprezentarea lor grafică a fost efectuată cu programul Excel, cu ajutorul comenzilor Pivot Tables, Functions-Statistical, Chart și modulului Data Analysis.

Pentru realizarea testelor de normalitate a datelor (Shapiro-Wilks și Anderson-Darling) și a testelor Student și Mann-Whitney-Wilcoxon s-au folosit comenzi din modulul XLSTAT și cu ajutorul programului SPSS.

REZULTATE

Rezultatele studiului clinic și a analizei statistice

Față de literatura de specialitate care arată că PE ușoară se întâlnește în aproape 75% din totalitatea cazurilor de preeclampsie, în cazuistica noastră procentul PE ușoare a fost de 40.51%, urmate de cazurile cu HTAG în număr de 32 (20.25%), apoi cazurile cu PE severă, acestea fiind întâlnite la un număr de 19 gravide paciente (12.03%), iar procentul PE ușoare a fost de 40,51%.

Literatura de specialitate afirmă faptul că femeile cu vârsta maternă avansată, au de până la 2 ori mai multe șanse de a avea preeclampsie, comparativ cu femeile sub 35 de ani. Am remarcat în studiul nostru, că prezența preeclampsiei a fost în majoritatea cazurilor la grupele de vârstă cuprinse între 20 și 30 ani, adică 84 cazuri reprezentând 51,90% din cazuri. La vârste extreme, sub 20 ani, am avut doar 5 cazuri (3,16%), iar la peste 35 ani am avut 32 cazuri (20,25%), ceea ce este un procent destul de semnificativ. Mai rămâne categoria de vârstă 30-34 ani, care totuși în țara noastră, datorită specificului demografic, reprezintă o categorie de vârstă cu risc. La această categorie, am avut 28 cazuri cu preeclampsie, ceea ce a reprezentat un procent de 17,72%. Efectuând testul p ANOVA, prin analiza diferențelor între cele două categorii cu un interval de încredere de 95%, nu am găsit o diferență semnificativă statistic între repartiția tipului de PE și vârsta maternă.

Obezitatea este și ea incriminată în creșterea riscului de apariție a preeclampsiei. În studiul nostru, efectuând testul pANOVA, pentru a compara media valorilor IMC la care s-a instalat tipul de PE studiat, am găsit o diferență statistică înalt semnificativă între PE severă și restul tipurilor de PE. Deci, un IMC crescut se poate corela pozitiv cu o rată mai mare de preeclampsie și cu un risc crescut de apariție a acestei patologii, mai ales cu inducerea unei preeclampsii severe.

Un istoric familial de tulburări hipertensive crește riscul de eclampsie. Un predictor puternic al bolilor cardiovasculare precoce este istoricul familial. La studiul nostru, am constatat o implicare mai mare a AHC cardiovasculare la cazurile cu preeclampsie și în special la cazurile cu PE severă, la 42,11% din cazuri. Corelând statistic AHC cardiovasculare cu tipul de preeclampsie întâlnit, am constatat că AHC cardiologice pot influența apariția preeclampsiei și tipul de preeclampsie.

Corelând statistic numărul de nașteri normale din antecedente, am constatat că paritatea, în special nuliparitatea nu influențează semnificativ apariția preeclampsiei la loturile studiate, având o valoare a lui $p=0.054$, deci $p>0,05$, totuși nu putem afirma acest lucru cu certitudine, din cauza valorii lui p care este la limită.

În acest sens, am urmărit instalarea preeclampsiei la gravidele care nu erau primipare din loturile de studiu, 23.42% din cazuri. Efectuând testul Chi pătrat pentru a analiza dacă avem o diferență semnificativă statistic în ceea ce privește probabilitatea instalării preeclampsiei la gravidele care au mai prezentat preeclampsie în antecedente, am constatat că valoarea lui $p=0.199793122$, deci $p>0,05$, ceea ce înseamnă că avem o diferență nesemnificativă statistic. Aceasta ne arată că, nu este obligatoriu ca prezența

unei preeclampsii la o sarcină anterioară să fie urmată de instalarea preeclampsiei la sarcinile ulterioare, date ce concordă cu ipotezele recente din literatură.

S-a sugerat că disfuncția vasculară poate fi un factor predispozant pentru placentăția anormală și poate reprezenta legătura dintre defectele de placentăție și dezvoltarea bolilor vasculare. Am luat în considerare acest aspect și am studiat evoluția sarcinii la cele 5 cazuri cu HTAG (15.63%), 6 cazuri cu PE ușoară (9.38%) și 4 cazuri cu PE severă (21.05%), care au prezentat în antecedente RCIU. În urma analizei statistice am constatat prezența unei legături semnificative statistic între prezența RCIU la o sarcină anterioară și prezența preeclampsiei și RCIU la sarcina actuală.

Asocierea trombofiliei cu PE a fost prezentă într-un procent ridicat 26.32%, la cazurile cu PE severă și la cazurile cu HTAG într-un procent de 15.63%. Am identificat o diferență semnificativă (p Chi pătrat=0.013072303 < 0,05 – prag de încredere de 99%) între prezența trombofiliei și instalarea PE.

Infecțiile materne acute, cum ar fi infecții ale tractului urinar (ITU) pot, de asemenea, juca un rol în preeclampsie, probabil prin amplificarea răspunsului inflamator sistemic matern. La loturile noastre de studiu, infecția urinară nu s-a corelat semnificativ statistic cu apariția PE, de altfel, mecanismul exact al asocierii este considerat ca fiind incert în literatura de specialitate.

Am găsit o diferență statistică semnificativă între sarcina normală ca evoluție și PE severă și medie, referitor la valorile Hb și Ht. Acest rezultat ar putea confirma datele din literatură referitoare la valoarea Hb, dar la loturile noastre nu a fost vorba de o anemie. Efectuând testul pANOVA, pentru a compara media valorilor Ht la care s-a instalat tipul de PE studiat am găsit o diferență statistică semnificativă, doar între sarcina normală ca evoluție și PE severă.

Din toate modificările hematologice care apar în preeclampsie, trombocitopenia este cea mai comună. Deși în cadrul loturilor studiate nu am avut o trombocitopenie, aceasta fiind considerată la valori sub 150.000/mm³, am remarcat o valoare mai scăzută la lotul cu PE severă, 172.37±75.29 /mm³, cu valori minime care au ajuns și la 108.000/mm³.

Am studiat valoarea acidului uric în corelație cu sarcinile cu preeclampsie studiate și am întâlnit cea mai ridicată valoare la cazurile cu PE severă, cu o medie de 5.52±0.73 mg/dl. În urma analizei statistice putem afirma că există o legătură înalt semnificativă statistic între valoarea acidului uric din PE severă și restul preeclampsiiilor, precum și între PE ușoară și HTAG.

Procentul cel mai ridicat (78.95%) al PE instalată precoce a fost întâlnit la PE severă, la un număr de 15 gravide dintr-un total de 19. Un procent ridicat, 56.25%, ceea ce reprezintă 36 gravide dintr-un total de 64 gravide, a fost întâlnit și la grupa gravidelor cu PE ușoară. Preeclampsia cu debut precoce a fost semnificativ asociată cu un risc ridicat de deces fetal.

Cele mai multe cazuri cu restricție de creștere intrauterină (RCIU) le-am întâlnit la cazurile cu PE severă, 15 cazuri din cele 19 cu PE severă (78.95%). Am identificat o diferență înalt semnificativă (p Chi pătrat < 0.0001 – prag de încredere de 99%) între apariția RCIU și tipul de PE.

În urma analizei statistice, putem afirma că există o corelație directă și puternică, între vârsta gestațională la care apare preeclampsia și vârsta gestațională la naștere, având un coeficient r Pearson de 0.433679639 și un coeficient p ANOVA sub 0.0001. Acest lucru ne îndreptățește să conchidem că un debut precoce al preeclampsiei poate influența evoluția sarcinii, ducând fie la o naștere prematură, fie la o afectare a stării fătului și a mamei.

În studiul nostru am urmărit reducerea valorilor tensiunilor arteriale, în funcție de tipul preeclampsiei, în primele 4-5 zile postpartum. Nu am avut nici un caz la care să avem o persistență a HTA peste această perioadă sau la care să apară de novo o HTA. Chiar și la cazurile la care tulburările de vedere au persistat, valorile TA au fost în scădere, ceea ce a contribuit și la rezolvarea în timp a leziunilor oftalmice.

Rezultatele caracterizării stressului oxidativ în sarcina cu preeclampsie

Dpdv fiziopatologic, modificările ce apar în preeclampsie includ creșterea rezistenței vasculare sistemice, vasoconstricție generalizată și activarea cascadei coagulării, toate acestea putând fi explicate prin perturbarea funcției endoteliale materne. Stressul oxidativ se manifestă la nivelul interfeței materno-fetale devreme în sarcină. Acesta joacă un rol atât în dezvoltarea normală a placentei precum și în fiziopatologia complicațiilor, cum ar fi avortul spontan, preeclampsia, restricția de creștere intrauterină (RCIU) și ruperea prematură a membranelor. Isoprostanii sunt evaluați în calitate de markeri ai stressului oxidativ (8-iso-PGF₂ α). F2-Isoprostanii sunt în prezent considerați cei mai buni biomarkeri disponibili ai stării de stress oxidativ și ai peroxidării lipidice in vivo.

În acest studiu, am speculat că nivelul plasmatic de 8-iso-prostaglandin F₂ α matern ar putea fi crescut în timpul evoluției sarcinii cu preeclampsie și am investigat rolul potențial al acestuia în retinopatia hipertensivă și complicațiile materne și fetale ale preeclampsiei.

Efectuând testul pANOVA, pentru a compara media valorilor 8-isoprostan F₂ α la care s-a instalat tipul de PE studiat, am găsit o diferență între PE severă și toate celelalte tipuri de PE, cu o corelare statistică înalt semnificativă cu $p < 0.0001$.

Determinând o valoare prag pentru 8-isoprostan F₂ α , astfel încât să putem diferenția valorile specifice pentru pacientele cu preeclampsie severă și restul pacientelor, pe baza valorilor cut-off calculate, recomandăm folosirea valorii de 780 pg/ml ca prag pentru PE severă și folosirea valorii de 435 pg/ml ca prag pentru PE ușoară.

Cercetările noastre sprijină prin urmare, ipoteza că excreția mare de isoprostan împreună cu producția scăzută de antioxidant, determină un dezechilibru al stressului oxidativ și poate precede recunoașterea instalării preeclampsiei.

Descoperirea isoprostanilor are implicații importante pentru medicină. În primul rând, s-a stabilit că măsurarea 8- isoprostan F₂ α este abordarea cea mai de încredere pentru a evalua starea de stress oxidativ in vivo, oferind un instrument important de explorare a rolului stressului oxidativ în patogenia oricărei boli umane. În plus, producții căii de formare a isoprostanilor s-au dovedit a exercita acțiuni biologice puternice și pot reprezenta, prin urmare, mediatori fiziopatologici ai bolii.

Rezultatele evaluării retinopatiei hipertensive din preeclampsie în contextul stressului oxidativ

Retinopatia hipertensivă este întâlnită la 60% dintre paciente și este cea mai frecventă complicație oculară legată de preeclampsie și eclampsie. Aceasta poate fi asociată cu modificări secundare cum ar fi: spasmul focal arteriolar, edemul retinian difuz, hemoragii, exsudate și infarcte în fibrele nervoase.

În studiul nostru, retinopatia hipertensivă a fost detectată la 36,70% dintre pacientele cu preeclampsie. Am considerat că retinopatia de grad 0 reprezintă aspectul normal al fundului de ochi, aspect care a fost întâlnit la cele 43 cazuri cu sarcină normală, la 24 cazuri (78.13%) cu HTAG și la cele 33 cazuri (53.13%) din cele 62 cu PE ușoară.

În cazul HTAG, am întâlnit doar la 6 gravide (21.88%) o retinopatie K-W-B de grad I; la gravidele cu PE ușoară am întâlnit la 23 gravide (37.50%) manifestări de retinopatie K-W-B de grad I și retinopatie K-W-B de grad II la 6 gravide (9.38%).

În cazul gravidelor cu PE severă, manifestările au fost complexe, întâlnind toate tipurile de retinopatie. La 4 gravide (21.05%) am avut retinopatie gradul I, la 7 gravide (36.84%) gradul II, la 8 gravide (42.11%) gradul III și la 4 gravide am întâlnit retinopatia K-W-B de gradul IV (21.05%).

Efectuând analiza statistică, pentru a compara valorile gradului retinopatiei Keith-Wagener-Barker la pacientele care au prezentat diverse tipuri de preeclampsie și cele cu o sarcină normală, am observat că, diferența era înalt semnificativă statistic cu p sub 0.0001. Putem spune că gradul retinopatiei se corelează din punct de vedere statistic cu tipul de PE, existând o corelare pozitivă astfel: cu cât avem un tip mai sever de PE cu atât cresc și se amplifică și modificările retiniene.

În timp ce cele mai multe paciente își recuperează vederea normală în termen de câteva săptămâni de la naștere, altele recuperează vederea normală mult mai devreme, în funcție și de gradul retinopatiei și de tipul de preeclampsie. Nu am avut cazuri cu dezlipire de retină sau cecitate corticală. Am întâlnit 3 cazuri cu pierderea parțială tranzitorie a vederii, la gravidele cu PE severă. Toate pacientele au fost monitorizate pentru reducerea problemele lor vizuale, pe o perioadă medie de 6 luni și nu a fost nevoie de nici o intervenție chirurgicală.

Este foarte important ca revenirea la normal a tulburărilor vizuale să fie urmărită, deoarece odată cu nașterea simptomele se ameliorează, dar lipsa unei monitorizări poate face ca o HTA din postpartum să nu fie observată. Monitorizarea este complexă și în cazul nostru a inclus obligatoriu un oftalmolog și un cardiolog, alături de medicul obstetrician.

Efectuând testul p ANOVA, prin analiza diferențelor între cele două categorii cu un interval de confidență de 95%, am găsit o diferență înalt semnificativă statistic între repartiția tipului de PE și remiterea tulburărilor vizuale. Există o diferență înalt semnificativă statistic, p ANOVA < 0.0001, între PE severă și PE ușoară și HTA.

Isoprostanii nu numai compromit circulația prin diminuarea fluxului sanguin dar, de asemenea, par să contribuie la stressul oxidativ indus de prejudiciul vascular, așa cum se remarcă în retinopatiile ischemice.

De aceea, am încercat să vedem corelația care există între valorile plasmatică găsite la cazurile cu preeclampsie și să stabilim un context oxidativ între cazurile care au prezentat retinopatie hipertensivă.

Am remarcat ca 8-isoprostanii-F2 α cresc odată cu gradul retinopatiei. Efectuând testul p ANOVA, cu un interval de confidență de 95%, am găsit o diferență semnificativă statistic, p ANOVA=0.003014881, p<0,005 între repartiția gradului de retinopatie și concentrația plasmatică a 8-isoprostanului la loturile studiate, această diferență semnificativă statistic fiind între retinopatia de grad IV și retinopatia de gradul I și lotul fără retinopatie.

Am găsit o corelație semnificativă statistic (p ANOVA < 0.0001) între gradul de severitate al preeclampsiei și gradul retinopatiei hipertensive. Rezultatele noastre sugerează că gradul de retinopatie hipertensivă la femeile cu preeclampsie este un factor de prognostic valid și de încredere, care oferă o informație prognostic valabilă privind evaluarea severității preeclampsiei și prin rezultatul neonatal.

Vârsta gestațională la care s-a instalat PE, a fost un criteriu de apreciere al severității leziunilor induse la nivel ocular. Cu cât vârsta gestațională la care a apărut PE a fost mai precoce în al treilea trimestru de sarcină, cu atât leziunile induse la nivelul microcirculației au fost mai pregnante (p< 0.0001).

Această statistică ilustrează importanța vigilenței referitor la condițiile rare și grave totodată care pot apărea, la gravidele cu tulburări vizuale fiind necesară o evaluare promptă. Tratatamentul prompt al sindromului preeclampitic, duce la reducerea manifestărilor oculare și a sechelelor vizuale asociate cu această condiție.

Rezultatele evaluării histologice placentare la pacientele cu preeclampsie în contextul stressului oxidativ

Deoarece placenta prezintă o cantitate abundentă de mitocondrii, o mare parte a speciilor reactive de oxigen (ROS) este continuu produsă în timpul proceselor metabolice.

Placenta până în prezent, este un organ puțin înțeles care joacă un rol central pe parcursul sarcinii. Aceasta a fost descrisă ca un jurnal “de viață intrauterină” și are potențialul de a elucida multe aspecte ale proceselor care se întâmplă în timpul sarcinii.

În timpul sarcinii, producția ROS crește treptat odată cu creșterea cererii de energie ca urmare a cerințelor atât fetale cât și maternelor. Deși o cantitate mică de ROS este considerată a fi un al doilea mesager, o cantitate de ROS excesivă ar provoca leziuni oxidative asupra ADN-ului, lipidelor și proteinelor.

Dovezile sugerează că stressul oxidativ placentar este implicat în etiopatogenia preeclampsiei. Perfuzia redusă, ca rezultat al placentăției anormale, conduce la ischemie și reperfuzie la nivel placentar. Stressul oxidativ placentar care rezultă din injuria ischemie-reperfuzie, este raportat ca fiind din ce în ce mai implicat în etiopatogenia preeclampsiei.

Producția in vitro a hidroxidului de hidrogen și a tromboxanului este crescută, atât în celulele trofoblastice, cât și în țesutul vilos la femeile cu preeclampsie. Pe lângă faptul că isoprostanul este un marker cantitativ al stressului oxidativ în vivo, 8-izo-PGF2 α este un vasoconstrictor puternic; mediază creșterea

celulelor musculare netede, activează trombocitele și induce dereglarea funcției de barieră a celulelor endoteliale.

Pentru a vedea care ar putea fi leziunile induse placentar la femeile preeclamptice în contextul stressului oxidativ prezent în preeclampsie și pentru a determina prevalența rezultatelor histologice sugestive pentru perfuzia deficitară maternă a placentei, am efectuat un studiu histologic al placentei, care a fost recoltată imediat după naștere.

Cele mai semnificative leziuni placentare au fost analizate statistic, găsind o corelare înalt semnificativă cu tipul de PE (p Chi pătrat < 0.0001) în cadrul următoarelor tipuri de leziuni: leziuni vasculare, leziuni de tip vilozități stem cu vase dilatate trombozate, vilozități hipoplazice cu aspect pseudoangiomatos, leziuni vilozitare, leziuni de tip impregnare calcară și necroză hemoragică, referitor la leziunile compatibile cu vasculopatia trombotică fetală, întâlnind o corelare înalt semnificativă statistic, a leziunilor de tip necroză hemoragică perivasculară funiculară și tromboză funiculară.

Am considerat că aspectul caracteristic histopatologic pentru stressul oxidativ din preeclampsie, este apariția vilozităților hipoplazice cu aspect pseudoangiomatos.

Deoarece se crede că prezența de modificări la nivelul arteriolelor retiniene și hemoragiile retiniene pot indica schimbări similare în placentă, am realizat o corelare între modificările fundului de ochi, exprimate prin gradul retinopatiei conform clasificării Keith-Wagener-Barker și leziunile placentare specifice preeclampsiei și implicit ale stressului oxidativ.

Prin analiza concordanței leziunilor placentare cu gradul retinopatiei Keith-Wagener-Barker, putem spune că modificările de tip infarct placentar, infiltrat inflamator cronic, edem interstițial vilozitar, nu sunt corelate statistic cu gradul retinopatiei.

Prin analiza concordanței leziunilor placentare cu gradul retinopatiei Keith-Wagener-Barker, putem spune că modificările de tip vilozități hipoplazice cu aspect pseudoangiomatos, impregnări calcare, tromboză vasculară funiculară, prezintă o corelație înalt semnificativă statistic ($p < 0.0001$) cu gradul retinopatiei.

Probabil că, sub influența stressului oxidativ, modificările la nivel placentar se reflectă și prin modificarea microcirculației de la nivel ocular, la cazurile cu retinopatie gradul IV având cea mai mare creștere a 8-iso-PG F2 α . Am demonstrat prin studiul nostru, că există o corelare între aspectul histologic placentar, modificările retiniene și severitatea PE.

Având în vedere faptul că bunăstarea fătului depinde de circulația placentară, examenul oftalmoscopic al fundului de ochi matern ar putea da un indiciu referitor la schimbările microcirculației similare din placentă și indirect un aspect al bunăstării fetale. Examinarea fundului de ochi la pacientele cu preeclampsie, este o evaluare clinică importantă pentru a depista o eventuală degradare a stării de bine fetal.

DISCUȚII

Natura multifocală a preeclampsiei este legată de patogenia acesteia. Deși mecanismul exact care duce la instalarea preeclampsiei continuă să fie slab definit, multe perspective promițătoare sunt descoperite în fiecare an.

Factorii de risc pentru preeclampsie includ: factori socio-demografici (extremele vârstei reproductive, status socio-economic), factori genetici, factori specifici sarcinii (mutiparitate, primiparitate, preeclampsie anterioară), istoric medical (obezitate, patologie renală, diabet, HTA cronică, trombofilie).

Într-un studiu al lui Lamminpää din 2012, gravidele cu vârstă maternă avansată au prezentat într-un procent mai mare preeclampsie (9,4%) decât femeile mai tinere (6,4%). Femeile cu vârstă maternă avansată au de 1,5 ori mai multe șanse de a avea preeclampsie, comparativ cu femeile sub 35 de ani.

Am remarcat în studiul nostru, că prezența preeclampsiei a fost în majoritatea cazurilor la grupele de vârstă cuprinse între 20-30 ani, 84 cazuri, reprezentând 51,90% din cazuri.

Un studiu de cohortă (Duckitt K 2005), a arătat că femeile cu un indice de masă corporală peste 35 înainte de sarcină a avut de peste patru ori risc crescut de preeclampsie, comparativ cu femeile cu un indice de masă corporală de dinainte de sarcină de 19-27. În special, un indice de masă corporală > 35 dublează riscul de preeclampsie.

Corelând un IMC mediu cu tipul de PE, am constatat că HTAG a apărut la o greutate aproximativ normală, la un IMC de 26,65, dar mai ridicat decât IMC găsit la gravidele care au dezvoltat PE ușoară/medie, de 25,97. În schimb, PE severă a apărut la gravidele cu un IMC mediu de 30,13.

Un istoric familial puternic de risc cardiovascular total, crește riscul de a dezvolta hipertensiune arterială tranzitorie de sarcină și preeclampsie. La studiul nostru, am constatat o implicare mai mare a AHC cardiovasculare, la cazurile cu preeclampsie și în special la cazurile cu PE severă ,42,11% din cazuri.

În ceea ce privește prevenirea adică identificarea femeilor cu risc de preeclampsie, există diferențe între femeile nulipare și multipare. Corelând statistic numărul de nașteri normale din antecedente am constatat că paritatea, în special nuliparitatea nu influențează semnificativ apariția preeclampsiei la loturile studiate, având o valoare a lui $p=0.054$, deci $p>0,05$.

Riscul de recurență al preeclampsiei în timpul unei sarcini ulterioare trebuie să fie luat în considerare. Constatările studiului nostru sunt în concordanță cu existența a două condiții distincte: un tip sever de debut precoce afectat de factori cronici, genetici sau de mediu, precum și un tip mai ușor de debut, sporadic, afectat de factori tranzitorii. În acest sens, am urmărit instalarea preeclampsiei la gravidele care nu erau primipare din loturile de studiu, 23.42% din cazuri.

O meta-analiză a studiilor observaționale care examinează relația dintre infecțiile materne și preeclampsie (Conde-Agudelo 2008) a raportat o rată de probabilitate pentru preeclampsie de 1,57 (95% CI 1,45-1,70) la femeile cu ITU în timpul sarcinii. Cu toate acestea, heterogenitatea a fost marcantă între studii și rezultatele au fost inconsistente.

Pentru lotul studiat avem o diferență nesemnificativă în ceea ce privește prezența infecțiilor urinare între cele 4 tipuri de evoluție a sarcinii, rezultatul obținut prin efectuarea testului Chi pătrat fiind $p=0.105355399 > 0.05$.

Numărul de trombocite scade precoce în hipertensiunea din sarcină și precede modificările renale, propunându-se astfel un rol activ al consumului de trombocite în fiziopatologia acestei patologii. Deși în cadrul loturilor studiate nu am avut o trombocitopenie, aceasta fiind considerată ca valori sub $150.000/\text{mm}^3$, am remarcat o valoare mai scăzută la lotul cu PE severă, $172.37 \pm 75.29 /\text{mm}^3$.

Acidul uric nu este un factor predictiv consistent pentru dezvoltarea preeclampsiei, dar concentrațiile plasmatice de acid uric se corelează aproximativ cu severitatea bolii. Cea mai ridicată valoare a acidului uric a fost întâlnită la cazurile cu PE severă, cu o medie de $5.52 \pm 0.73 \text{ mg/dl}$.

Procentul cel mai ridicat de PE precoce, în studiul nostru, a fost întâlnit la PE severă, 78.95%, la un număr de 15 gravide dintr-un total de 19 gravide.

Restricția de creștere intrauterină (RCIU) este o complicație obstetricală care, prin definiție, are o incidență de 10% în populația generală. Cele mai multe cazuri cu RCIU am întâlnit la cazurile cu PE severă, 15 cazuri din cele 19 cu PE severă (78.95%).

Tsukimori (Tsukimori 2007) a demonstrat o creștere semnificativă a producției anionilor superoxid (O_2^-) de către neutrofile la pacientele cu preeclampsie. Recent, s-a demonstrat că o creștere a producției de O_2^- de către neutrofile la femeile cu preeclampsie, determină injuria directă a celulelor endoteliale în cultura din celulele venei ombilicale umane, in vitro.

În acest studiu, am speculat că nivelul plasmatic de 8-izo-prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ matern ar putea fi crescut în timpul evoluției sarcinii cu preeclampsie și am investigat rolul potențial al 8-izo-prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ în producerea complicațiilor sarcinii cu preeclampsie, referindu-ne la retinopatia hipertensivă și complicațiile materne și fetale ale preeclampsiei.

Am cuantificat valorile plasmatice ale 8-iso-PG $\text{F}_{2\alpha}$, cu tipul de preeclampsie și am constatat că în PE severă am avut valori plasmatice ridicate ale acestui isoprostan, cu valori minime de 450 pg/ml, chiar mai mici decât valorile maxime întâlnite într-o sarcină normală. Dar am găsit și valori maxime de 11200 pg/ml, așa cum și la sarcina cu evoluție normală am găsit valori maxime de 6200 pg/ml. Valoarea medie a 8-iso-PG $\text{F}_{2\alpha}$ în PE severă, a fost de 2670.53 pg/ml. În ceea ce privește prezența unei corelații pozitive între biomarkeri ai stressului oxidativ și severitatea sindromului de preeclampsie, rezultatele noastre confirmă această corelație.

În cazul PE severe, am încercat să stabilim o valoare cut-off pentru 8- isoprostan $\text{F}_{2\alpha}$, pentru a diferenția pacintele cu preeclampsie severă de restul pacientelor. Pe baza valorilor cut-off calculate am realizat un tabel cu indicatorii statistici care ne pot da relații asupra implicării creșterii 8-isoprostan $\text{F}_{2\alpha}$ în evoluția complicațiilor preeclampsiei severe.

Raportul de probabilitate pozitiv (LR+), ne arată că gravidele care au o valoare prag de 782 pg/ml, au un risc de a dezvolta complicații ale PE severe de 2,5 ori mai mare, față de gravidele care nu prezintă

aceste valori. Gravidele la care raportul de probabilitate negativ (LR-) este de 0.369, la aceleași valori ale isoprostanului, ne arată că ele au un risc de numai 0,3% de a dezvolta complicații ale PE severe.

Retinopatia hipertensivă este întâlnită în 60% dintre paciente și este cea mai frecventă complicație oculară legată de preeclampsie și eclampsie. Circulația retinei trece printr-o serie de schimbări fiziopatologice ca răspuns la tensiunea arterială crescută. Evoluția sarcinilor studiate a fost către modificări ale fundului de ochi la un număr de 58 gravide care au prezentat diferite grade de retinopatie Keith-Wagener-Barker.

În cazul HTAG, am întâlnit doar la 6 gravide (21.88%) o retinopatie K-W-B de tip I; la gravidele cu PE ușoară am întâlnit la 23 gravide (37.50%) manifestări de retinopatie K-W-B de tip I și retinopatie K-W-B de tip II la 6 gravide (9.38%).

În cazul gravidelor cu PE severă, manifestările au fost complexe, întâlnind toate tipurile de retinopatie. La 4 gravide (21.05%) am avut retinopatie gradul I, la 7 gravide (36.84%) gradul II, la 8 gravide (42.11%) gradul III și la 4 gravide am întâlnit retinopatia K-W-B de gradul IV (21.05%).

Un mecanism nou de acțiune a 8-isoprostan- $F_2 \alpha$, a fost descris referitor la vascularizația neuronală inclusiv cea a retinei, prin care 8-isoprostane- $F_2 \alpha$ provoacă vasoconstricție prin eliberarea de TXA₂ din endoteliu și parenchim printr-un mecanism dependent de activarea canalelor de calciu de pe suprafața celulară (Hou 2000).

Efectuând testul p ANOVA, prin analiza diferențelor între cele două categorii cu un interval de confidență de 95%, am găsit o diferență semnificativă statistic, p ANOVA 0.003014881 între repartiția tipului de retinopatie și concentrația plasmatică a 8-isoprostanului, la loturile studiate, această diferență semnificativă statistic fiind între retinopatia de grad IV și retinopatia de gradul I și lotul fără retinopatie.

O caracteristică a placentei provenită din sarcinile cu preeclampsie a fost asocierea la vilozitățile hipoplazice a transformării pseudoangiomatoase. Aceasta nu duce la creșterea fluxului de sânge vilozitar, deoarece transformarea edematoasă a stromei vilozitare duce la îngustarea spațiului intervilos în placentă.

CONCLUZII

Corelând statistic numărul de nașteri normale din antecedente am constatat că paritatea, în special nuliparitatea nu influențează semnificativ apariția preeclampsiei la loturile studiate, având o valoare a lui $p=0.054$, deci $p>0.05$.

Asocierea trombofiliei cu PE a fost prezentă într-un procent ridicat 26.32%, la cazurile cu PE severă și la cazurile cu HTAG într-un procent de 15.63%.

Pentru a analiza dacă avem o diferență semnificativă dpdv statistic în ceea ce privește valoarea acidului uric între diversele tipuri de PE, am obținut o valoare $p< 0.0001$.

Procentul cel mai ridicat al PE precoce a fost întâlnit la PE severă, 78.95%, la un număr de 15 gravide dintr-un total de 19 gravide.

Efectuând testul pANOVA, pentru a compara media valorilor 8-isoprostan F2 α la care s-a instalat tipul de PE studiat, am găsit o diferență între PE severă și toate celelalte tipuri de PE, cu o corelare statistică înalt semnificativă, $p < 0.0001$.

Recomandăm folosirea valorii cut-off de 780 pg/ml ca prag pentru PE severă și folosirea valorii de 435 pg/ml ca prag pentru PE ușoară.

Am remarcat că valorile 8-isoprostan-F2 α cresc odată cu gradul retinopatiei. Efectuând testul p ANOVA, cu un interval de încredere de 95%, am găsit o diferență semnificativă statistic, p ANOVA=0.003014881, $p<0,005$ între repartiția gradului de retinopatie și concentrația plasmatică a 8-isoprostanului, la loturile studiate.

Am considerat că aspectul caracteristic histopatologic pentru stressul oxidativ din preeclampsie, este apariția vilozităților hipoplazice cu aspect pseudoangiomatos.

Am demonstrat că există o corelare între aspectul histologic placentar, modificările retiniene și severitatea PE.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- Akhlaq M, Nagi AH, Yousaf AW. Placental morphology in pre-eclampsia and eclampsia and the likely role of NK cells. *Indian J Pathol Microbiol* 2012;55:17-21
- Basu S, Isoprostanol: novel bioactive products of lipid peroxidation. *Free Radic Res.* 2004; 38: 105-122
- Booij JC, Baas DC, Beisekeeva J, Gorgels TG, Bergen AA, The dynamic nature of Bruch's membrane, *Prog Retin Eye Res.* 2010;29(1):1-18
- Burton GJ, Jauniaux E, Oxidative stress, *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2011; 25(3): 287–299
- Campbell M, Humphries P, The blood-retina barrier: tight junctions and barrier modulation, *Adv Exp Med Biol.* 2012;763:70-84
- Das B, Saha-Roy S, Das Gupta A, Lahiri TK, Das HN, Assessment of placental oxidative stress in pre-eclampsia, *J Obstet Gynaecol India.* 2012;62(1):39-42
- Demir ME, Ulas T, Dal MS, Eren MA, Aydogan H, Yalcin S, Camuzcuoglu A, Hilali NG, Aksoy N, Buyukhatipoglu H, Oxidative stress parameters and ceruloplasmin levels in patients with severe preeclampsia, *Clin Ter.* 2013;164(2):e83-87
- Dinn RB, Harris A, Marcus PS, Ocular changes in pregnancy. *Obstet Gynecol Surv.* 2003;58:137-144
- Gupta A, Kaliaperumal S, Setia S, et al. Retinopathy in preeclampsia: association with birth weight and uric acid level. *Retina.* 2008; 28: 1104-10
- Hein TW, Ren Y, Potts LB, Yuan Z, Kuo E, Rosa RH, Kuo L, Acute Retinal Ischemia Inhibits Endothelium-Dependent Nitric Oxide-Mediated Dilation of Retinal Arterioles via Enhanced Superoxide Production, *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012;53:30–36
- Hou X, Gobeil Jr. F, Peri K. Augmented vasoconstriction and thromboxane formation by 15-F(2t)-isoprostanol (8-iso-prostaglandin F(2alpha)) in immature pig periventricular brain microvessels, *Stroke.* 2000;31:516–525
- Myatt L. Review: Reactive oxygen and nitrogen species and functional adaptation of the placenta. *Placenta.* 2010; 31:S66–S69
- Pramono BA, Kristanto H, Serum 8-isoprostanol increased in pre-eclampsia, *Univ Med.* 2012;31:43-51
- Tsukimori K, Nakano H, Wake N, Difference in Neutrophil Superoxide Generation During Pregnancy Between Preeclampsia and Essential Hypertension, *Hypertension.* 2007;49:1436-1441
- Reddy SC, Sivalingam N, Sheila Rani KG, Tham SW. Fundus changes in pregnancy induced hypertension. *Int J Ophthalmol,* 2012;5(6):694-697
- Uzan J, Carbonel M, Pre-eclampsia: pathophysiology, diagnosis, and management, *Vasc Health and Risk Manag.* 2011; 7: 467-474.