

**IP UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„NICOLAE TESTEMIȚANU”**

Cu titlu de manuscris

C.Z.U.: 618.2:618.177-089.888.11 (043.2)

DOBROVOLSKAIA ALIONA

**PARTICULARITĂȚILE EVOLUȚIEI ȘI DE CONDUITĂ
A SARCINII OBTINUTE PRIN METODA
FERTILIZĂRII IN VITRO LA FEMEILE PESTE 35 DE ANI**

321.15 - OBSTETRICĂ ȘI GINECOLOGIE

Rezumatul tezei de doctor în științe medicale

CHIȘINĂU, 2024

Teza a fost elaborată la Departamentul de Obstetrică și Ginecologie a IP Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova.

Conducător științific:

MOȘIN Veaceslav, dr. hab. șt. med., profesor universitar
specialitatea 321.15 Obstetrică și ginecologie

Consultant științific:

TODIRAȘ Mihail, dr. hab. șt. med., conferențiar cercetător

Referenți oficiali:

ROTARU Marin, dr. hab. șt. med., profesor universitar, IMSP
Institutul Mamei și Copilului

ILIADI-TULBURE Corina, dr. șt. med., conferențiar
universitar, IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie
„Nicolae Testemițanu”

Componența Consiliului Științific Specializat:

Președinte:

DONDIUC Iurie, dr. hab. șt. med., profesor universitar

Secretar:

CATRINICI Rodica, dr. șt. med., conferențiar universitar

Membrii:

CERNEȚCHI Olga, dr. hab. șt. med., profesor universitar

TAGADIUC Olga, dr. hab. șt. med., profesor universitar

OPALCO Igor, dr. șt. med., conferențiar cercetător

BOLOGAN Ion, dr. șt. med., conferențiar universitar

Susținerea va avea loc la 27 martie, 2024, ora 14.00, biroul 205, în ședința Consiliului Științific Specializat D 321.15-23-133 din cadrul IP Universitatea de Stat Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” (bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, MD-2004, Republica Moldova).

Teza de doctor și rezumatul pot fi consultate la biblioteca IP USMF „Nicolae Testemițanu” și pe pagina web a ANACEC www.anacec.md

Rezumatul a fost expedit la 22.02.2024

**Secretar științific al Consiliului științific
specializat**, dr. șt. med., conf. univ.



CATRINICI Rodica

Conducător științific,
dr. hab. șt. med., prof. univ.



MOȘIN Veaceslav

Consultant științific,
dr. hab. șt. med., conf. cerc.



TODIRAȘ Mihail

Autor



DOBROVOLSKAIA Aliona

CUPRINS

REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII	4
CONȚINUTUL TEZEI	7
1. Evoluția și monitoringul sarcinii la femeile cu vârsta de peste 35 de ani în concepția contemporană.....	7
2. Materiale și metode de cercetare.....	11
3. Particularitățile anamnestic-clinice ale sarcinii la femeile cu vârsta de peste 35 de ani incluse în studiu.....	12
3.1. Aspectele clinico-anamnesticale ale gestantelor din cercetare.....	12
3.2. Caracteristica antecedentelor extragenitale, ginecologice și obstetricale la etapa includerii în studiu a gestantelor cu sarcina concepută prin metoda FIV	13
4. Evoluția clinică a sarcinii concepute prin metoda FIV, la femeile cu vârsta de peste 35 de ani	14
4.1. Particularitățile evoluției sarcinii concepute prin metoda FIV la gravidele cu vârsta de peste 35 de ani	14
4.2. Complicațiile în sarcinile concepute prin metoda FIV și conduita la gestantele cu vârsta de peste 35 de ani	15
5. Evaluarea profilului imun și al markerilor stresului oxidativ în sarcinile concepute prin metoda FIV	22
5.1. Citokinele și markerii imuni în sarcinile concepute prin metoda FIV la femeile cu vârsta de peste 35 de ani	22
5.2. Determinarea statusului oxidant și antioxidant în sângele gestantelor de peste 35 de ani cu sarcinile concepute prin metoda FIV	22
5.3. Markerii oxidanți și antioxidanți determinați în lichidul amniotic la gestantele cu vârsta de peste 35 de ani, în sarcinile concepute prin metoda FIV	22
SINTEZA REZULTATELOR OBȚINUTE	23
CONCLUZII GENERALE	25
RECOMANDĂRI PRACTICE	26
BIBLIOGRAFIE	28
LISTA PUBLICAȚIILOR LA TEMA TEZEI	31
ADNOTARE	32
ANNOTATION	34
АННОТАЦИЯ	35
Foaia privind datele de tipar	37

REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

Actualitatea și importanța problemei abordate. Sănătatea maternă și eficiența vârstei reproductive se includ în determinanții succeselor în medicină, prognozelor echilibrului demografic și proceselor socio-economice pentru fiecare stat, comunitate.

Prezenta teză de doctorat s-a axat pe evaluarea analizei particularităților funcției reproductive a femeilor în vârsta avansată (peste 35 de ani), inclusiv asigurarea parcurgerii în siguranță a perioadei de sarcină și a nașterii, și oferirea cuplurilor a celor mai bune șanse de a avea copii sănătoși.

Tema cercetării se încadrează în obiectivele asigurării unei maternități sigure, promovate în Agenda 2030 a Obiectivelor de Dezvoltare Durabilă (ODD), elaborate de Organizația Națiunilor Unite (ONU); Strategia globală pentru sănătatea femeilor, a copiilor și a adolescenților (2016-2030); Legea Republicii Moldova nr. 138 din 15.06.2012, privind sănătatea reproducerii; și Strategia Națională de Sănătate „Sănătatea 2030”, obiectivul general 2.2 [1, 2, 3].

Tranziția demografică începută cu două sute de ani în urmă, a stat la baza unui proces de creștere economică fără precedent în istorie, care a rezultat prin îmbunătățirea simultană a productivității și a nivelului de trai, contribuind, astfel, la dezvoltarea marilor aglomerări urbane contemporane, a favorizat o diviziune a muncii mai avansată și, nu în ultimul rând, a contribuit la schimbarea atitudinilor față de familie/cuplu, inclusiv prin amânarea nașterii primului copil pentru o vârstă mai matură [4].

Principalii indicatori statistici ai natalității și fertilității au o tendință de continuă reducere, cu excepția vârstei medii a mamei la naștere, pentru toate țările Uniunii Europene, situație valabilă și pentru Republica Moldova. Rata totală de fertilitate în 2021 în Uniunea Europeană (UE) a fost de 1,53 născuți vii per femeie (comparativ cu 1,57 în anul 2016).

Numărul mediu de fete, care supraviețuiesc până la sfârșitul perioadei de reproducere, născute de aceeași femeie, definit ca *rata netă de reproducere*, începând cu anul 1994, în Republica Moldova, luat ca nivel de referință, este mai mic de unu, fiind în continuă descreștere, în anul 2020 atinge valoarea 0,858, fapt ce indică că deja de 29 de ani se atestă o reproducere scăzută a populației.

Este cert, că îmbătrânirea populației și manifestarea fertilității este condiționată de o serie de factori sociali, economici, legislativi, educaționali, sanitari, psihologici și culturali, care, la rândul lor, impun căutarea noilor posibilități de a investi în vârsta reproductivă și maternitatea eficientă.

Prezenta cercetare ține cont de progresele atinse în domeniul conduitei medicale în obstetrică și se axează pe un segment cu puține dovezi științifice, și anume, pe cel ce ține de particularitățile evoluției sarcinilor concepute prin metoda FIV, la femeile în vârstă cărora este de peste 35 de ani.

În acest context, problemele abordate în cercetare sunt importante prin faptul, că contribuie la extinderea cunoștințelor referitoare la restabilirea capacităților reproductive ale cuplurilor, care se confruntă cu infertilitate, prin aplicarea metodei de fertilizare in vitro (FIV) și

oferirea femeilor cu vârsta înaintată a noilor garanții pentru o sarcină sigură finalizată cu nașterea unui copil sănătos.

Descrierea situației în domeniu și identificarea problemei de cercetare. Este recunoscut, că complicațiile ce pot apărea în timpul sarcinii sunt mult mai frecvente în rândul femeilor cu vârsta de 35 de ani și peste. Deși nu există o definiție universală de "vârsta avansată a gestantei", totuși, un criteriu de bază îl reprezintă vârsta de 35 de ani, în general utilizat pentru a defini femeia gravidă „cu vârsta avansată” [5].

Vârsta avansată a mamei este asociată cu rezultate adverse ale sarcinii, cum ar fi disfuncția placentară, restricția de creștere fetală, decesul perinatal, nașterea prematură, preeclampsia etc. [6].

În general, funcția diferitor organe se deteriorează odată cu vârsta. Îmbătrânirea este bine-cunoscută ca o stare inflamatorie cronică și de grad scăzut, dependentă de vârstă, care apare din cauza acumulării de celule imunitare și a producției de citokine proinflamatorii [7].

Interleukina (IL)-1 α , IL-1 β , IL-6 și factorul de necroză tumorală- α (TNF α), prezintă în mod clar o creștere dependentă de vârstă a expresiei, care reflectă conceptul emergent de inflamare (inflamație + îmbătrânire). Cu toate acestea, actualmente nu sunt dovezi științifice argumentate, că inflamația apare în placenta mamei cu vârstă înaintată. Studiile recente au demonstrat, că majoritatea problemelor de dezvoltare la femeile cu vârsta avansată, sunt de origine maternă, dar nu ovocitele „vechi”, iar un mediu uterin matern nefavorabil poate duce la disfuncție placentară și complicații ale sarcinii [8].

Infertilitatea este o boală, care a fost clasată de Organizația Mondială a Sănătății (OMS) pe locul cinci în topul patologiilor la nivel global. Estimările sugerează, că aproximativ una din șase persoane de vârstă reproductivă din întreaga lume se confruntă cu infertilitate de-a lungul vieții [9].

Conform informațiilor furnizate de Centrul Național de Sănătate a Reproducerii și Genetică Medicală (CNSRGM) din cadrul Institutului Mamei și Copilului (IMȘC), circa 20 la sută din toate cuplurile de vârstă reproductivă din Republica Moldova suferă de o formă sau alta de infertilitate.

Problema infertilității conduce, inevitabil, la amânarea considerabilă a vârstei primei gravidități și unica alternativă pentru apariția sarcinii rămâne tratamentul prin tehnologii de reproducere asistată medical (TRAM).

Deși ultimele decenii se caracterizează prin noi progrese în domeniul monitorizării sarcinii, vigilența și identificarea riscurilor în sarcina obținută prin aplicarea metodei de fertilizare în vitro (FIV), în situația cuplurilor infertile și când vârsta mamei la prima naștere atinge 35 de ani sau mai mult, poate determina realizarea acțiunilor profilactice și curative oportune pentru a avea o maternitate în siguranță, atât pentru mamă cât și pentru nou-născut. Pentru 2,5 la sută din cupluri infertile, posibilitatea de a avea o sarcină, și ulterior un copil, este FIV.

Cercetarea data, a ținut cont de progresele atinse în domeniul conduitei medicale în obstetrică și s-a axat pe un segment cu puține dovezi științifice și anume pe particularitățile evoluției sarcinilor concepute prin metoda FIV, la femeile vârsta cărora este de peste 35 de ani.

În acest context, importanța perfecționării serviciilor medicale în domeniul reproducerii,

abordate în cercetare, contribuie la extinderea cunoștințelor referitoare la prevenirea riscurilor și identificarea noilor posibilități medicale, oferite femeilor cu vârsta înaintată, care se confruntă cu infertilitate, asigurând noile garanții pentru o sarcină finalizată cu nașterea unui copil sănătos.

Pentru identificarea problemelor și metodelor de soluționare menționate, a fost stabilit următorul **scop al cercetării**:

Identificarea particularităților clinice în evoluția sarcinilor, concepute prin metoda FIV, la gestantele cu vârstă de peste 35 de ani și corelarea acestora cu valorile biomarkerilor imuni și cei ai stresului oxidativ, determinați în al doilea trimestru de sarcină din sângele matern și lichidul amniotic.

Obiectivele cercetării:

1. Analiza evoluției clinice a sarcinilor concepute prin metoda FIV la gravidele cu vârsta de peste 35 de ani.
2. Interpretarea nivelului citokinelor determinate în sângele matern și lichidul amniotic, în trimestrul al doilea de sarcină.
3. Determinarea biomarkerilor stresului oxidativ prelevați din serul sanguin și lichidul amniotic, în trimestrul al doilea, la gestantele cu vârsta de peste 35 de ani, în sarcina concepută prin metoda FIV.
4. Analiza particularităților evoluției sarcinilor concepute prin metoda FIV și corelarea lor cu variațiile biomarkerilor determinați în trimestrul al doilea de sarcină.

Metodologia cercetării. Cercetarea reprezintă studiul prospectiv de cohortă descriptiv și predictiv, efectuat în perioada anilor 2011-2015 în cadrul Institutului Mamei și Copilului, Centrului Național de Sănătate a Reprodusei și Genetică Medicală.

Eșantionul studiului a inclus 222 de gravide cu vârsta de peste 35 de ani, divizat în 2 loturi, corespunzător modului de concepere a sarcinii: prin metoda FIV și pe cale naturală. Pe parcursul monitorizării evoluției sarcinilor au fost determinați de la fiecare gestantă a câte 28 de biomarkeri (6 mediatori imuni, inclusiv citokine și 22 de markeri ai stresului oxidativ) din materialul biologic, recoltat din sângele matern și lichidul amniotic în trimestrul al doilea de sarcină, cu ulterioara corelare a variației acestora cu particularitățile înregistrate pe parcursul evoluției sarcinilor și nașterilor.

Noutatea și originalitatea științifică a rezultatelor obținute. În premieră s-au studiat atât implicarea citokinelor în serul sanguin (IL-6, IL-12) și în lichidul amniotic (IL-8, IL-12), precum și factorul de creștere endotelial vascular (VEGF), cât și implicarea markerilor stresului oxidativ în lichidul amniotic: activitate antioxidantă totală hexan (AAT-hexan), gama-glutamil transpeptidaza (γ -GPT), glutathion-s-transferaza (GST) și glutathion peroxidaza (GPO) în mecanismele patogenetice de dezvoltare a complicațiilor prin hipertensiune indusă de sarcină, preeclampsie și naștere prematură, în sarcinile obținute prin metoda FIV la femeile cu vârsta de peste 35 de ani, anticipând evoluția clinică.

Semnificația teoretică și valoarea aplicativă a lucrării. Rezultatele obținute în prezentul studiu invocă noi argumentări științifice referitor la posibilitatea identificării timpurii a riscurilor complicațiilor în sarcină, cum ar fi hipertensiunea indusă de sarcină, preeclampsia și

naștere prematură, prin analiza în trimestrul al doilea de sarcină ai markerilor imuni (pro- și antiinflamatori), oxidanților și antioxidanților din lichidul amniotic și serul sanguin, fapt ce ar anticipa declanșarea complicațiilor în sarcină.

Valoarea aplicativă a cercetării constă în lărgirea spectrului diagnosticului antenatal precoce prin determinarea markerilor imuni, inclusiv citokinelor și stresului oxidativ, ca factori de prognostic pentru riscul declanșării complicațiilor în evoluția sarcinilor concepute prin FIV la femeile cu vârsta de peste 35 de ani.

Aprobarea rezultatelor științifice. Rezultatele științifice expuse în lucrare au fost comunicate și discutate în cadrul diverselor forumuri științifice naționale și internaționale: Archives of the Balkan Medical Union Supliment Nr. S3(48) / 2013 , pp. 58, ISSN 0041-6940 cât și în Conferința științifică anuală, cercetarea în biomedicină și sănătate, Analele Științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”, 2013, nr. 5(14), pp. 86-ISSN 1857-1719. Teza a fost discutată, aprobată și recomandată spre susținere la ședința Disciplinei de Obstetrică și Ginecologie a IP USMF „Nicolae Testemițanu”, din 04.09.2023, proces-verbal nr. 2, și la ședința Seminarului Științific de Profil 321.15 - Obstetrică și Ginecologie din 20.09.2023, proces-verbal nr. 8.

Publicații la tema tezei. La subiectul tezei au fost publicate 10 lucrări științifice, în reviste din Registrul Național al revistelor de profil și două teze în culegeri științifice în lucrările conferințelor științifice internaționale și naționale. Au fost obținute 2 certificate de inovator.

Implementarea rezultatelor științifice. Rezultatele studiului au fost implementate în activitatea didactică și științifică a Departamentului de Obstetrică și Ginecologie a USMF “Nicolae Testemițanu” și la IMSP IMȘIC.

Sumarul compartimentelor tezei. Teza realizată în limba română este expusă pe 187 pagini, dintre care partea principală reprezintă 139 pagini. Teza constă din adnotări în limbile română, engleză și rusă, introducere și 5 capitole, dintre care: capitolul 1 prezintă reviuul literaturii, capitolul 2 – materialul și metodele de cercetare, capitolele 3, 4 și 5 – includ datele obținute, sinteza rezultatelor, concluzii, recomandări practice și bibliografie. Bibliografia include 163 de titluri de referințe. Lucrarea conține 18 figuri, 29 tabele și 10 anexe.

Cuvinte-cheie: vârsta reproductivă, infertilitate, fertilizare în vitro, FIV, diagnostic antenatal, citokine, interleukine, markeri ai stresului oxidativ.

CONȚINUTUL TEZEI

1. EVOLUȚIA ȘI MONITORINGUL SARCINII LA FEMEILE CU VÂRSTA DE PESTE 35 DE ANI ÎN CONCEPȚIA CONTEMPORANĂ

Acest compartiment al cercetării este dedicat analizei surselor științifice care raportează date despre particularitățile fertilității feminine și evoluția sarcinii la femeile cu vârsta de peste 35 de ani, precum și aspectele contemporane ale diagnosticului prenatal în sarcinile concepute prin metoda FIV la gestantele cu vârsta de peste 35 de ani.

De asemenea, a fost revizuită literatura de specialitate referitor la rolul citokinelor în răspunsul imun la gestantele cu vârsta de peste 35 de ani și profilul stresului oxidativ în evoluția sarcinii concepută prin metoda FIV.

Conform statisticilor actuale, se înregistrează o reducere a natalității la femeile cu vârsta între 15-24 de ani și o majorare a natalității la categoria de vârstă 25-34 de ani. Scăderea fertilității la femeile începe deja în jurul vârstei de 25-30 de ani, iar vârsta medie la ultima naștere este de 40-41 de ani [10].

Progresele tehnologice au confirmat, că timpul fertil depinde de mulți factori individuali, iar „arta planificării naturale” a familiei, constă, în abilitatea de a recunoaște începutul și sfârșitul fazei fertile [11].

Este demonstrat, că rezerva ovariană se consumă din momentul în care s-au constituit ovarele în viața intrauterină, dar mai accelerat atrezia foliculară are loc după 35 de ani. Expresia hormonală, a diminuării rezervei ovariene este reprezentată de augmentarea nivelului hormonului foliculostimulant (FSH) și hormonului luteinizant (LH), iar când concentrația acestora se dublează, șansele pentru o fertilizare reușită devin, deseori, nule. De asemenea, utilizarea biomarkerilor, precum hormonul Antimüllerian (AMH) și numărul foliculilor antrali (AFC), oferă o informație utilă despre rezerva ovariană [12, 13].

Conform datelor din literatura de specialitate, procesul inflamator în evoluția sarcinilor la gestante cu vârsta de peste 35 de ani, rămâne un mecanism primordial al complicațiilor pe parcursul evoluției sarcinii. Citokinele și chemokinele pro- și antiinflamatoare, markerii stresului oxidativ, joacă un rol important în patogeneza complicațiilor evoluției sarcinii asociate infecției și patologiilor fetale [14,15,16].

Un șir de cercetătorii preocupati de impactul patologiilor extragenitale, antecedentelor ginecologice și obstetricale pentru caracterul și riscurile evoluției sarcinii relatează prezența unui șir de factori de genază maternă, fetală, placentară, de mediu, precum și frecvență asociere a acestora, care la rândul său influențează dezvoltarea fetală și evoluția fiziologică a sarcinii.

Astfel, punctul de reper în cercetare, a fost faptul că evoluția sarcinii, indiferent de vârsta gestantei, este în directă interdependență cu antecedentele personale fiziologice: menarha (ani), caracterele ciclului menstrual, condiții de viață, de muncă (noxe profesionale, efort deosebit, adicții etc.), antecedente heredocolaterale (istoricul familial), antecedente personale, patologice, antecedente obstetricale și ginecologice: număr de nașteri anterioare, durata, patologia sarcinilor anterioare, date despre travaliu, naștere, greutatea fiecărui copil la naștere, scorul Apgar, feți născuți morți, malformații, starea actuală de sănătate a copilului/copiilor, evoluția perioadei de lăuzie, numărul de avorturi medicale sau spontane anterioare: sub 12 săptămâni de gestație sau/și 12-21 de săptămâni + 6 zile, efectuate chirurgical sau medicamentos; avorturi cu complicații; sarciniectopice etc.

În cercetare au fost studiate următoarele tehnici actuale de diagnostic prenatal invaziv/non-invaziv: ecografia fetală, fetoscopia, diagnosticul genetic preimplantațional (PGD), biopsia de vilozități coriale (CVS), cordocenteza [17]. Amniocenteza a fost procedura de recoltare a lichidul amniotic realizată în trimestrul al doilea de sarcină, începând cu săptămâna 15 de sarcină la gestantele incluse în studiu din ambele loturi, pentru determinarea și interpretarea markerilor imuni și profilului stresului oxidativ.

Pentru fiecare gestantă sarcina, este o provocare din considerentul, că sistemul imunitativ al ei, trebuie nu doar sa tolereze fătul, ci și să răspundă adecvat la unele patologii, care pot

apărea în timpul sarcinii. Sistemul imunitar este suprimat, pentru a preveni atacul asupra fătului, această suprimare fiind explicată de creșterea nivelului de hormoni în timpul sarcinii.

Estrogenul, progesteronul, hormonii produși în timpul sarcinii ajută la stimularea sau suprimarea sistemului imunitar al femeii, la reducerea inflamației în evoluția sarcinii pentru a proteja fătul împotriva atacului imunitar. Astfel, recunoașterea imunologică a sarcinii inițiază o serie de schimbări, care, în cele din urmă, au ca rezultat o atitudine imunologică tolerantă față de făt. Mai mulți actori ai sistemului imunitar, cum ar fi celulele T reglatoare, celulele Natural Killer (NK) și citokinele, contribuie la crearea unui mediu favorabil pentru făt, iar multe dintre aceste modificări funcționale sunt orchestrate și controlate de progesteron.

Mai multe mecanisme protective funcționează în timpul gestației pentru a corecta efectele nocive ale imunității anti-fetale și pentru a susține un rezultat fiziologic al sarcinii. Studiul este bazat pe conștientizarea, că eșecul oricărui pas dintre cei menționați mai sus, poate conduce la o serie de complicații ale sarcinii, inclusiv avort spontan, preeclampsie, restricție de creștere fetală (RCF), placenta accreta și naștere prematură.

Datele din literatura de specialitate sugerează, că citokinele deciduale nu joacă rolul doar în imunosupresie, ci și în alte mecanisme de stabilire a sarcinii, inclusiv în reglarea invaziei trofoblastice și remodelarea arterelor spiralate. Această revizuire se concentrează, spre exemplu, pe rolul potențial al citokinelor derivate din decidua în etiologia avortului spontan inexplicabil [18].

Este cunoscut faptul, că citokinele de origine maternă acționează asupra dezvoltării placentare. Totodată, expresia antigenului pe placenta determină modelul de citokine maternel. Sarcina cu evoluție fiziologică se caracterizează prin activitate periferică scăzută a celulelor NK, iar activitatea crescută a NK pare să joace un rol important în declanșarea avorturilor spontane cu etiologie necunoscută [19].

O altă funcție a citokinelor de care s-a ținut cont în cercetare este asigurarea de către ele a sistemului endocrin imunologic cu capacitatea de a dezvolta reacția la pericolul de inflamație.

Unele cercetări au înregistrat niveluri măsurabile ale citokinelor inflamatorii IL-1 alfa, IL-1 beta, IL-6 și TNF – alfa, prezente în vagin în timpul sarcinii și al travaliului. Nivelurile vaginale de IL-1 beta și IL-6 s-au dovedit a fi crescute semnificativ la pacientele aflate în travaliu, în comparație cu pacientele care nu sunt în travaliu [20].

Un interes științific prezintă faptul, că un dezechilibru între cele 2 tipuri de citokine cu un raport al Th1 / Th2 dezechilibrat, se asociază cu eșecul recurent de reproducere și poate beneficia de tratamente, care modulează acest raport cu ameliorarea prognosticului reproductiv [21].

Raportul echilibrat al citokinelor pro- și antiinflamatorii este esențial pentru reglarea sistemului inflamator matern pe tot parcursul sarcinii.

Exprimarea factorului de creștere endotelial vascular (VEGF), receptorii săi VEGFR-1 (Flt-1) și VEGFR-2 (KDR) și factorul de creștere a placentei (PlGF) au roluri importante în promovarea angiogenezei placentare normale.

Tulburările vasculare pot modifica funcția placentară și pot compromite dezvoltarea fătului. Angiogeneza este strâns legată de succesul gestațional [22].

Deși amploarea rolului său în dezvoltarea placentară nu este pe deplin înțeleasă, VEGF este exprimat pe scară largă de către celulele endoteliale, citotrofoblaști și macrofagele maternelle și fetale. În prezenta cercetare s-a evaluat deleția VEGF în coraport cu vârsta femeilor și în complicații induse de sarcină la gestantele cu sarcina concepută prin FIV.

Cercetările axate pe evaluarea stresului oxidativ la femeile gravide și făt, au scos în evidență faptul, că la etapele incipiente ale dezvoltării placentare, o concentrație relativ scăzută de oxigen protejează embrionii timpurii de stresul oxidativ. Activitatea antioxidantă este, de asemenea, importantă pentru menținerea nivelului stabil de oxigen în placenta. O epuizare a capacității antioxidante printr-o abundență scăzută de antioxidanți enzimatici sau neenzimatici, face celulele vulnerabile la stresul oxidativ.

Speciile reactive de oxigen (ROS), cum ar fi radicalii superoxid, radicalii hidroxil, radicalii alcoxid, precum și intermediarii neradicali peroxidul de hidrogen, ozonul și oxigenul singlet, sunt produse secundare ale metabolismului energetic aerob. Concentrația acestor radicali este menținută la niveluri fiziologice atât prin activitatea enzimelor antioxidante superoxid dismutază, catalază și peroxiredoxine, cât și prin concentrațiile de glutatone și vitaminele C și E. Recent, ROS insuficient reglementat a fost recunoscut drept un contribuitor major la tulburările de sarcină [23].

În mod normal, organismul dispune de mecanisme antioxidante, care limitează acest proces. Antioxidanții sunt molecule prezente în celule, care împiedică aceste reacții, donând un electron radicalilor liberi, fără a se destabiliza ele însele [24]. Intensificarea agresiunilor oxidative și micșorarea eficacității mecanismelor antioxidante de a reduce stresul oxidativ, se poate solda cu complicații multiple ale sarcinii, poate genera apariția așa - numitelor „boli ale speciilor reactive ale oxigenului în neonatologie” [25].

Ca urmare, în mai multe cercetări științifice este identificat, că sarcinile patologice sunt asociate cu un nivel sporit de stres oxidativ, în care radicalii liberi sunt supraproduși și se generează un deficit în apărarea antioxidantă.

A fost studiată literatura științifică privind unele patologii, precum hipertensiunea indusă de sarcină (HIS), preeclampsia (PE) și naștere prematură (NP), care au influență inițială asupra dezvoltării fătului, și respectiv, asupra complicațiilor maternelle, corelând cu declanșarea stresului oxidativ [26, 27, 28]. În literatură este stabilită înregistrarea dezvoltării afecțiunilor menționate mai sus în mod spontan în multe sarcini la gestante, inclusiv la cele cu vârsta de peste 35 de ani, fără nici o suspiciune prealabilă [29, 30].

Aspectele enumerate mai sus ale particularităților evoluției sarcinii au fost considerate de o importanță majoră pentru cercetare, deoarece o înțelegere mai profundă a mecanismelor, care guvernează stresul oxidativ, atât în placenta, cât și în endoteliul vascular matern, ar putea oferi noi oportunități pentru dezvoltarea unor abordări terapeutice inovatoare pentru a putea preîntâmpina complicațiile induse de sarcină.

2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

În corespundere cu scopul și obiectivele propuse spre realizare, studiul dat a fost efectuat la Departamentul de Obstetrică și Ginecologie a IP USMF „Nicolae Testemițanu”, în IMSP

IMȘIC, în Centul de Sănătate a Reproducerii și Genetică Medicală.

Pentru a atinge obiectivele cercetării, s-a realizat studiul prospectiv de cohortă, conform următoarelor etape:

- *prima etapă* – chestionarea gravidelor printr-un interviu standard, având drept scop selectarea datelor anamnestice ale gestantelor referitoare la vârstă, antecedentele personale patologice, acuzele prezentate, identificarea anamnezei obstetricale și ginecologice complicate și starea generală la momentul chestionării. Chestionarul a fost aprobat de către Comitetul de Etică Medicală al USMF „Nicolae Testemițanu”, din data de 20.06.2011;

- *etapa a doua* – formarea eșantionului reprezentativ de studiu cu ajutorul chestionarului și instrumentelor de colectare a datelor, inclusiv obținerea acordurilor informate pentru participare în studiu și pentru utilizarea datelor personale cu cifrarea lor ulterioară. La finele acestei etape au fost selectate 222 de paciente, cărora le-a fost efectuată prelevarea serului sanguin și lichidului amniotic (prin amniocenteză), cu determinarea ulterioară în laborator a 28 de markeri (6 markeri imuni și 22 de markeri ai stresului oxidativ), la fiecare gestantă, atât în lichidul amniotic, cât și în serul sanguin.

Cele 222 de gravide au fost incluse în studiu, începând cu trimestrul al doilea de sarcină (14-20 săptămâni), și au fost consultate în Secția Sănătatea Reproducerii și Genetică Medicală din IMSP IMȘIC pe parcursul anilor 2011-2013. Pacientele incluse în studiul au fost repartizate în 2 loturi: 111 gestante cu sarcina obținută prin metoda FIV și 111 gestante cu sarcina concepută în mod natural. Concomitent, au fost monitorizate gravidele în aspectul evoluției clinice a sarcinii, fiind analizate Fișele individuale ale gravidelor și rezultatele investigațiilor realizate conform standardelor de supraveghere antenatală. S-a organizat evaluarea stării de sănătate a gravidelor prin libera comunicare la etapa trimestrului al doilea de sarcină și în perioada de lăuzie, cu includerea informației acumulate în baza de date a cercetării;

- *etapa a treia* – a inclus analiza datelor obținute din investigațiile de laborator și clinice. Selectarea datelor cu valoare statistică semnificativă și analiza lor prin corelarea acestor date cu parametrii evoluției clinice și complicațiilor induse de sarcină înregistrate. Determinarea citokinelor și chemokinelor în materialul biologic a fost efectuată cu folosirea kiturilor „Mini ELISA Development Kit”. Aceste kituri conțin componentele de bază necesare pentru determinarea cantitativă a citokinelor și chemokinelor (IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, SDF-1 α , VEGF). Din 60 de parametri determinați din ser și lichidul amniotic cu valori semnificative statistic s-au rezumat următoarele investigații ai *markerilor prooxidanți ai stresului oxidativ*:

1. Hidroperoxizii lipidici (HPL timpurii (hexan), uc/ml).
2. Hidroperoxizii lipidici (HPL intermediari (hexan), uc/ml).
3. Hidroperoxizii lipidici (HPL tardivi (hexan), uc/ml).
4. Hidroperoxizii lipidici (HPL timpurii (izopropil)- uc/ml).
5. Hidroperoxizii lipidici (HPL intermediari (izopropil)- uc/ml).
6. Hidroperoxizii lipidici (HPL tardivi (izopropil)- uc/ml).
7. Produșilor proteici de oxidare avansată (PPOA).
8. Dialdehida malonică (DAM μ M/l).
9. Oxid nitric (NO μ M/l).

10. Compuși de glicare avansată (AGE $\mu\text{g/L}$).
11. Albumina ischemică modificată (AIM)

Și antioxidanților:

1. Activitate antioxidantă totală hexan (AAT-hexan mM/s.L).
2. Activitate antioxidantă totală izopropil (AAT-izopr. mM/s.L).
3. Peptide histidinice Carnozina $\mu\text{M/L}$.
4. Catalaza $\mu\text{M/L}$.
5. Determinarea activității superoxid-dismutazei (SOD u/c).
6. Gr Tiolice ale proteinelor.
7. Tyoredoxina.
8. Glutaredoxina.
9. Determinarea activității γ glutationreductazei. (γ – GR nM/s.L).
10. Nivelului de Glutation S Transferaza (GST $\mu\text{M/min. L}$).
11. Activitatea glutation peroxidazei (GPO nM/s.L).

Toate datele au fost prelucrate statistic cu diferite teste, utilizând software statistic IBM® SPSS® 22.0.0.0. În cadrul fiecărui lot inclus în studiu s-a efectuat analiza statistică descriptivă, cu determinarea mediei, deviației standard, medianei, percentilei 25 și percentilei 75. Pentru compararea șirurilor de valori între loturi s-a folosit testul non-parametric Mann-Whitney, deoarece distribuția valorilor a fost asimetrică. Pentru evidențierea corelațiilor între valorile parametrilor studiați și apariția complicațiilor în evoluția sarcinilor s-a utilizat metoda Spearman.

Datele acumulate au fost analizate statistic, efectuând astfel, sistematizarea rezultatelor, formularea concluziilor și elaborarea recomandărilor practice.

3.PARTICULARITĂȚILE ANAMNESTICO-CLINICE ALE SARCINII LA FEMEILE CU VÂRSTA DE PESTE 35 DE ANI INCLUSE ÎN STUDIU

3.1. Aspectele clinico-anamnesticale ale gestantelor din cercetare

În contextul scopului stabilit în cercetare, s-a reușit identificarea particularităților anamnesticale ale gravidelor din ambele loturi cu impactul lor pentru riscurile în sarcină. A fost analizat profilul pe vârste, mediul de reședință, nivelul de educație și statutul ocupațional al gestantelor.

Valoarea minimă și maximă a vârstei la femeile însărcinate din ambele loturi s-a dovedit a fi identică, respectiv 35 de ani și 52 de ani incluse în cohorta studiului. Vârsta la prima căsătorie s-a încadrat în 25 de ani și mai mult: în lotul I pentru $58 \pm 2,9\%$ din gravide și în lotul II pentru $51 \pm 2,55$ la sută din gravide.

Rezultatele obținute demonstrează, că în 53,2 la sută din cazuri, în studiu sunt incluse gestantele cu sarcinile concepute pentru prima dată, fapt ce confirmă intenția cuplurilor de a amâna nașterea primului copil după vârsta de 35 de ani. Această statistică este mai pronunțată printre femeile cu domiciliu stabilit în localitățile urbane.

În studiu cele domiciliate în localitățile rurale sunt în minoritate, respectiv, $28,8 \pm 1,4\%$ în lotul I și $43,2 \pm 2,2\%$ în lotul II.

Repartizarea femeilor în dependență de nivelul de educație a identificat o pondere mai mare a celor, cu studii superioare în categoria gravidelor cu sarcina obținută prin metoda FIV, cota fiind de $69,2 \pm 3,5\%$ față de $39,8 \pm 1,9\%$ pentru categoria cu studii medii, complete și incomplete.

Aspectul ocupațional, un alt criteriu de analiză, care influențează amânarea nașterii primului copil, și respectiv, plasarea femeii gravide în grupa de risc pentru sarcină, în loturile din studiu ocupă 81,5 la sută din totalul gestantelor.

3.2. Caracteristica antecedentelor extragenitale, ginecologice și obstetricale la etapa includerii în studiu a gestantelor cu sarcina concepută prin metoda FIV

Rezultatele obținute denotă, că gravidele cu vârsta de peste 35 de ani, cu sarcina concepută prin metoda FIV pe motiv de infertilitate, în anamneză, mai frecvent înregistrează maladii inflamatorii ($p < 0,05$), cum ar fi pielonefrita cronică la 13 gravide din lotul I ($11,7 \pm 0,59\%$), spre deosebire de 7 gestante din lotul II ($6,3 \pm 0,32\%$).

Boala varicoasă, un potențial risc, s-a înregistrat la 9 ($8,1\%$) gestante din lotul I și, respectiv, la două ($1,8\%$) gravide din al doilea lot de studiu. Ambele grupuri de gestante supuse unei supravegheri suplimentare, din motivul, că în sarcină, din cauza creșterii cantității de progesteron la mame (preparate administrate conform protocolului FIV), și respectiv, dilatării venelor, a existat pericolul de acutizare a maladiilor preexistente.

Rezultatele studiului au demonstrat, că gestantele cu sarcina concepută prin metoda FIV au un risc mai mare de creștere a ponderii în timpul sarcinii, una din explicații fiind medicația specifică reproducerii umane asistate medical. Astfel, un adaos ponderal majorat pe parcursul evoluției sarcinii s-a constatat la $14,7 \pm 0,74\%$ din gravidele din lotul I și la $6,3 \pm 0,32\%$ din gravidele cu sarcina concepută natural, incluse în cercetare în lotul II.

În cercetare au fost evaluate antecedentele ginecologice (patologii inflamatorii, tumorale, examenul citologic Babeș-Papanicolau, ITS - (chlamidioza, sifilis, gonoree etc.), vaginoză bacteriană și impactul lor pentru evoluția sarcinilor incluse în studiu.

A fost analizat istoricul menstruației (intervalului intermenstrual, durata, menarha). Ca urmare, ponderea de raport 3 : 1 a cazurilor cu menarhă tardivă este înregistrată în categoria sarcinilor ulterior concepute prin FIV. Ovulația neregulată în anamneză este un indiciu de risc pentru infertilitatea feminină. Polimenoreea în anamneză a fost caracteristică pentru 22 de gestante (17 cazuri în lotul I de studiu și 5 cazuri în lotul II), durata menstruală fiind constatată de peste 7 zile. S-a constatat că gestantele cu indicații ulterioare pentru FIV în $28,8 \pm 1,4\%$ au avut intervalul intermenstrual mai mare de 35 de zile.

În studiu, în ambele loturi au fost incluse atât gravidele primipare, cât și multigeste. În lotul I de studiu, unde au fost incluse gravidele sarcina cărora a fost concepută prin FIV, cota sarcinilor primipare a fost de 46,8 la sută, respectiv, multipare fiind în 53,2 la sută, și în lotul II, cu sarcina concepută natural, primipare au fost 36,6 la sută și, respectiv, multipare 63,4 la sută.

Anamneza obstetricală complicată în antecedente din numărul multigestelor incluse în studiu, a fost identificată la 85 de gravide, sau $81,7 \pm 4,1\%$. În lotul I – la 36 multigeste din totalul de 42 ($85,7 \pm 2,6\%$) și în lotul II – la 49 de gestante din 62 de multigeste total ($79 \pm 3,9\%$).

Astfel, se atestă o pondere mai mare a antecedentelor obstetricale în rândul multigestelor, care, ulterior, au dezvoltat infertilitate.

Anamneza obstetricală complicată în antecedente la gestantele din lotul 1 cu sarcinile concepute prin FIV, este axată pe 9 cazuri cu istoric de tehnologii de reproducere asistată medical (TRAM) cu rezultat finalizat prin avorturi spontane. De menționat, că avorturile spontane au avut incidență majorată în ambele loturi, având cea mai mare pondere, de $19,8 \pm 0,9\%$, în lotul I și $17,1 \pm 0,86\%$ în lotul II.

Numărul de macrosomii în antecedente, de asemenea, prezintă un risc matern și fetal major și în sarcinile gestantelor incluse în studiu.

4. EVOLUȚIA CLINICĂ A SARCINII CONCEPUTE PRIN METODA FIV LA FEMEILE CU VÂRSTA DE PESTE 35 DE ANI

4.1. Particularitățile evoluției sarcinii concepute prin metoda FIV la gravidele cu vârsta de peste 35 de ani

În cercetare a fost monitorizată evoluția clinică a sarcinilor pe perioada gestației și până la naștere, inclusiv, cele 2-6 ore de lăuzie. Rezultatele cercetării constată prezența riscurilor preconcepționale multifactoriale, descrise în capitolul precedent - vârsta medie la etapa concepției pentru gestantele din ambele loturi a fost $45,1 \pm 2,3$ de ani. Una din trei gestante din lotul I și una din două gestante din lotul II, în anamneza obstetricală, au avut complicații în antecedente. Patologiile extragenitale înregistrate la $53,6 \pm 2,7$ la sută din toate gravidele, au generat pe parcursul evoluției sarcinilor riscuri pentru complicații.

Referitor la indicele masei corporale (IMC), s-a constatat, că pe parcursul evoluției sarcinilor, o majorare a masei corporale la gestantele din lotul I, cu $28 \pm 1,4\%$, decât în lotul II ($17 \pm 0,85\%$), fapt ce presupune, la rândul său, apariția riscurilor suplimentare pentru siguranța sarcinii și nașterii.

Rezultatele referitoare la indicii hematologici și urinari la gestante, în trimestrul al doilea de sarcină au scos în evidență un șir de devieri de la limitele normei: în analiza generală de sânge în 25 cazuri, respectiv $22,5 \pm 1,1\%$, proteinuria a fost identificată în 5 sarcini la gestantele din lotul I, respectiv, $5,4 \pm 0,3\%$ și în 3 cazuri în lotul II, $2,7 \pm 0,1\%$. Prezența proteinuriei la 5 gravide din lotul I, a corespuns sarcinilor care au generat complicații prin HIS, preeclampsie. Datele obținute, la fel, au scos în evidență, că la $7,2 \pm 0,3\%$ din gravidele cu maladii cronice extragenitale, au fost înregistrate devieri ai parametrilor de la normă la probele hepatice. Pe profilul de monitorizare renală, parametri cu abateri s-au înregistrat în 5 cazuri la gestantele din lotul I ($4,5 \pm 0,2\%$) și la 7 gestante din lotul II ($6,3 \pm 0,3\%$).

Rezultatele ecografice fetale ale gestantelor din trimestrul al treilea de sarcină au constatat, că la una din gravide din lotul I cu obezitate de gradul II a fost suspectată malformația congenitală cardiacă a fătului, diagnostic confirmat după naștere – comunicarea atrio-ventriculară, non-ductal dependentă. O altă problemă, identificată prin explorarea imagistică prin ecografia la termenul de 32 de săptămâni de sarcină, a scos în evidență dezlipirea prematură a placentei normal inserate și moartea antenatală a fătului la gestanta cu vârsta de 48 de ani, multigestă, în

prezența mai multor patologii extragenitale, cum ar fi obezitatea de gradul II, pielonefrita cronică.

Din sarcini gemelare în cercetare s-au născut 28 de copii vii. În lotul I au fost 12 sarcini gemelare (10,8% de sarcini), iar în lotul II au fost doar 2 sarcini gemelare (1,8%).

Astfel, copii nou-născuți în lotul I au fost 123 și în lotul 2 – 115. Din toate nașterile, în ambele loturi, 88,2% cazuri au fost cu prezentație craniană la făt, în celelalte cazuri - prezentație pelviană. În 48,0% de cazuri sarcina s-a rezolvat per vias naturalis, în 51,2% de cazuri a fost indicată operația cezariană.

4.2. Complicațiile în sarcinile concepute prin metoda FIV și conduita la gestantele cu vârsta de peste 35 de ani

Categoriile de stări patologice și complicațiile induse de sarcină, inclusiv cele fetale, apreciate drept semnificative, au fost analizate multilateral, iar rezultatele sunt prezentate în tabelul 1.

Tabelul 1. Stări patologice și complicațiile în sarcină

	Lotul I		Lotul II	
	Nr. de cazuri	ÎÎ (interval încredere %)	Nr. de cazuri	ÎÎ (interval de încredere %)
Nașterea prematură	8	3,6% (ÎÎ 1,7-6,7%)	3	1,4% (ÎÎ 0,4-3,6%)
Hipertensiunea indusă de sarcină	16	6,9% (ÎÎ 4,1-10,8%)	11	5% (ÎÎ 2,7-8,4%)
Preeclampsie severă	5	2,3% (ÎÎ 0,9-4,9%)	0	-
Diabet gestațional	1	0,5% (ÎÎ 0,0-3,1%)	0	-
Dezlipirea prematură de placenta normal inserată	4	1,8% (ÎÎ 0,9-4,2%)	1	0,5% (ÎÎ 0,0-2,1%)
Ruperea prematură a membranelor amniotice	4	1,8% (ÎÎ 0,9-4,2%)	3	1,4% (ÎÎ 0,4-3,6%)
Hemoragii hipotone	2	0,9% (ÎÎ 0,9-2,9%)	0	-
Pielonefrita cronică în acutizare	1	0,5% (ÎÎ 0,0-3,1%)	0	-
Anemii	23	10,9% (ÎÎ 8,9-15,2%)	19	8,3% (ÎÎ 5,6-12,8%)
Polihidramnios	4	1,8% (ÎÎ 0,9-4,2%)	8	3,6% (ÎÎ 1,7-6,7%)
Moarte antenatală a fătului*	2	0,9% (ÎÎ 0,9-2,9%)	0	-
Malformații congenitale*	2	0,9% (ÎÎ 0,9-2,9%)	0	-
Făt macrosom*	14	6,3% (ÎÎ 1,7-6,7%)	10	4,6% (ÎÎ 2,3-7,9%)
Encefalopatie hipoxico-ischemică*	1	0,5% (ÎÎ 0,0-3,1%)	0	-
Icter neonatal*	3	1,4% (ÎÎ 0,4-3,6%)	3	1,4% (ÎÎ 0,4-3,6%)

Notă : ÎÎ –interval de încredere/confidență

** În calcul s-au inclus nr. de copii născuți, inclusiv gemeni (Lotul I -123, Lotul II- 113)*

Datele prezentate denotă că s-au înregistrat *complicații materne* în sarcinile la gestantele din ambele loturi. Au fost înregistrate 4 categorii de complicații statistic semnificative, care au fost înregistrate în evoluția la 44 de sarcini. În lotul I au fost înregistrate patologii induse în 30 de sarcini (68,2%) și în lotul II – în 14 sarcini (31,8%) figura 2.

Din totalul de 222 de sarcini, inclusiv 14 gemelare și nașteri monitorizate, au fost

înregistrate 5 preeclampsii (2,3%), care s-au declanșat în perioada 34-36 de săptămâni de gestație.

La toate gestantele, s-a dezvoltat HIS anterior preeclampsiei, fiind diagnosticată la termenul de 22-24 săptămâni de gestație.

Nașterile premature au avut loc în 4 cazuri complicate prin preeclampsie, la termenul de gestație de 34-36 săptămâni de gestație.

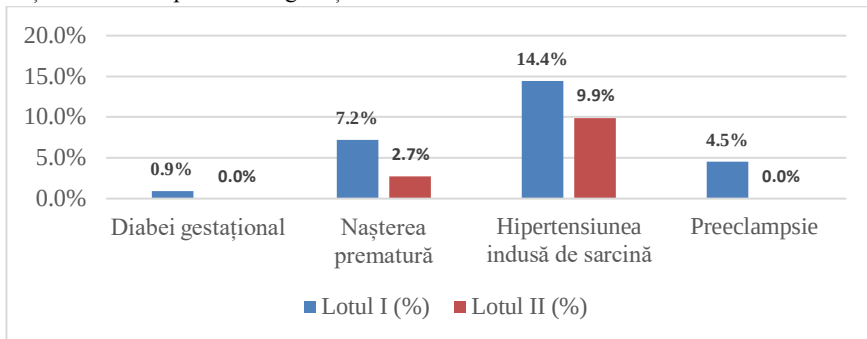


Figura 2. **Complicațiile materne în sarcină (%) la gestantele din loturile studiului**

Sarcinile au fost finalizate în 2 cazuri - prin nașterea per vias naturalis, în alte 3 cazuri – au fost indicații pentru operația cezariană.

Preeclampsia. Analizând parametrii biomarkerilor determinați din serul sanguin și din lichidul amniotic, identificați în al doilea trimestru de sarcină la gestantele din același lot, care au evoluat în preeclampsie (N=5), în comparație cu sarcinile, care au evoluat fără careva complicații din același lot (N=10), s-a constatat că:

IL-6 în trimestrul al doilea de sarcină crește statistic semnificativ, cu 42% ($p \leq 0,001$), în serul matern (media în ser este de $1535 \pm 76,75$ pg/mL în lotul cu preeclampsie față de $1080,90 \pm 54,05$ pg/mL în lotul fără preeclampsie), pentru sarcinile în care s-au declanșat preeclampsia. Iar în lichidul amniotic s-a constatat o micșorare nesemnificativă, cu 10,3% (media în lichidul amniotic a fost de $1232,80 \pm 61,64$ pg/mL), în lotul fără preeclampsie, în lotul cu preeclampsie media fiind de $1117,6 \pm 55,88$ pg/mL, figura 3.

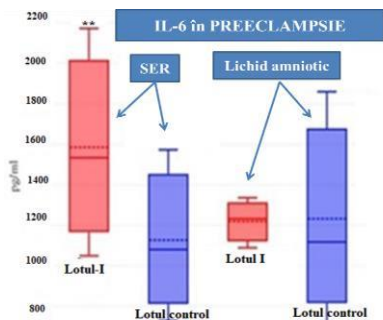


Figura 3. **Variațiile IL-6 determinate în serul sanguin și lichidul amniotic în sarcinile cu și fără preeclampsie din lotul I**

Notă: Test t student (ipoteză bilaterală). Datele sunt reprezentate ca medie $\pm$ eroarea standard * $p < 0,05$ este considerat semnificativ, ** $p < 0,001$ este considerat semnificativ

Nivelul IL-8 determinat în serul sanguin și lichidul amniotic la gestantele din lotul I în sarcinile cu și fără preeclampsie este prezentat în figura 4.

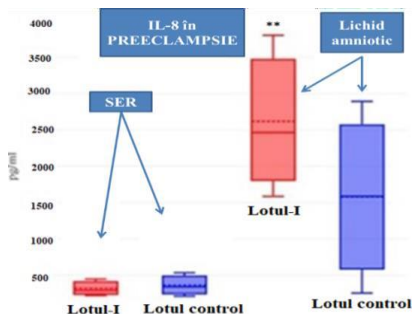


Figura 4. Variațiile IL-8 determinate în serul sanguin și lichidul amniotic în sarcinile cu și fără preeclampsie din lotul I

Notă: Test t student (ipoteză bilaterală). Datele sunt reprezentate ca medie $\pm$ eroarea standard.

** $p < 0,05$ este considerat semnificativ, ** $p < 0,001$ este considerat semnificativ.*

Rezultatele prezentate denotă, că în lichidul amniotic nivelul IL-8 este de $2463,4 \pm 123,17$ pg/mL în sarcinile cu preeclampsie, fiind statistic semnificativ mai mare ($p < 0,001$), față de sarcinile fără preeclampsie, unde nivelul este de $1587 \pm 79,38$ pg/mL.

Nivelul IL-10 în lichidul amniotic la gestantele cu preeclampsie a fost statistic semnificativ mai mare ($p < 0,05$). Diferență, dar nesemnificativă statistic, a nivelului IL-10 se atestă și în serul sanguin (figura 5).

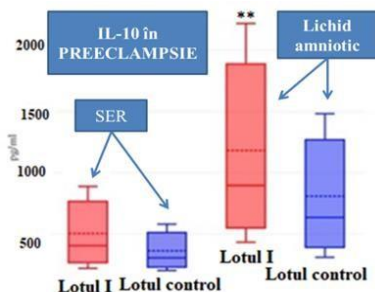


Figura 5. Variațiile IL-10 determinate în serul sanguin și lichidul amniotic în sarcinile cu și fără preeclampsie din lotul I.

Notă: Test t student (ipoteză bilaterală). Datele sunt reprezentate ca medie $\pm$ eroarea standard.

** $p < 0,05$ este considerat semnificativ,*

*** $p < 0,001$ este considerat semnificativ*

Alți factori, care au avut un rol important în formarea procesului de angiogeneză determinat, au fost: factorul vascular endotelial de creștere (VEGF), implicat în formarea vaselor de sânge în placenta și în facilitarea schimbului de gaze și substanțe nutritive între mamă/făt, și factorul stromal derivat celular (SDF-1a), nivelurile anormale ale căruia pot afecta procesul de implantare placentară cu riscul de pierdere recurentă a sarcinii.

Analiza nivelului prooxidanților și antioxidanților în ser la gestantele cu și fără preeclampsie denotă, că în cazul evoluției sarcinilor cu preeclampsie a fost depistat un nivel crescut a hidroperoxidilor lipidici (HPL) ca marker prooxidant față de sarcinile fără preeclampsie, pe când în lichidul amniotic aceste diferențe nu sunt statistic semnificative. Nivelurile antioxidanților: activitatea antioxidantă totală (AAT-izopropil), peptide histidinice Carnozina,

superoxiddismutaza (SOD), glutationreductaza (GR) au fost statistic semnificativ mai ridicate, ($p<0,05$) atât în serul sanguin, cât și în lichidul amniotic în cazul sarcinilor cu preeclampsie (tabelul 2).

Tabelul 2. **Profilul antioxidant în serul sanguin la sarcinile cu complicații prin preeclampsie și sarcinile fără particularități în evoluție**

Mediatorii antioxidanți	Determinați în serul sanguin în trimestrul II de sarcină		p
	Preeclampsia (N=5)	Fără preeclampsie (N=10)	
AAT-hexan mM/sl	0,13 ± 0,04	0,25± 0,16	0,5
AAT-izopr mM/sl	5,91 ± 1,72*	3,89± 0,67	0,05
Peptide histidinice (Carnozina μM/l)	178,48 ± 5,99	172,76± 4,6	0,4
Catalaza μM/l	14,95 ± 1,59	14,62± 1,99	0,3
SOD u/c-ser	1252,9 ± 60,8 **	1188,19± 88,89	0,001
Gr Tiolice ale prot	0,42 ± 0,03	0,43± 0,023	0,09
Tyoredoxina	0,55 ± 0,04	0,62± 0,06	0,3
Glutaredoxina	0,41 ± 0,02	0,4± 0,015	0,5
GR nM/s.L	643,8 ± 131,08**	483,47± 107,9	0,05
GST μM/min. L	63,5 ± 20,29	114,7± 68,1**	0,3
GPO nM/s.L	315,85 ± 38,2	876,12± 325,49**	0,7

Notă: * $p<0,05$ este considerat semnificativ, ** $p<0,001$ este considerat foarte semnificativ
*** $p<0,0001$ este considerat extrem de semnificativ

Hipertensiunea indusă de sarcină. La etapa monitorizării particularităților evoluției sarcinilor concepute prin metoda FIV la femeile cu vârsta peste 35 de ani incluse în studiu și respectiv lotul II de control în care au fost incluse gravide sarcina cărora a fost concepută natural deasemenea cu vârsta peste 35 de ani, cele mai multiple complicații cantitativ, induse de sarcină au fost hipertensiunea (HIS), patologie, care transferă sarcina în categoria „risc major”.

În lotul sarcinilor cu FIV s-au înregistrat 16 cazuri de HIS, iar în lotul sarcinilor concepute natural - 11 cazuri. Analiza acestor cazuri a evidențiat, că la 64% din gravide cu complicația dată intervalul de vârstă a fost cuprins între 35-45 de ani și în 36% de cazuri vârstă medie a fost 47 de ani.

În acuzele gravidelor, ca primele simptome clinice au apărut cefalea severă, somnolența, vertijurile. Valorile tensiunii arteriale, în toate cazurile, erau 140-160 mmHg / 90-110 mmHg, clasificând patologia în 3 cazuri ca ușoară și în altele - cu evoluție severă.

Un nivel crescut semnificativ statistic ($p<0,05$) al IL-6 în lichidul amniotic în lotul I, comparativ cu lotul II, fără diferențe statistic semnificative în serul sanguin. IL-8, la fel, prezintă diferență semnificativ statistică în lichidul amniotic, fiind mai mare în lotul I, față de lotul cu sarcina concepută natural, pe când în serul sanguin se atestă un nivel scăzut al IL-8 în lotul cu FIV, față de lotul II.

Valorile interleukinelor IL-6 și IL-8, identificate în serul sanguin și lichidul amniotic la gestantele cu sarcina concepută prin metoda FIV și cea concepută natural, în evoluția cărora s-a identificat HIS, sunt prezentate în figura 6.

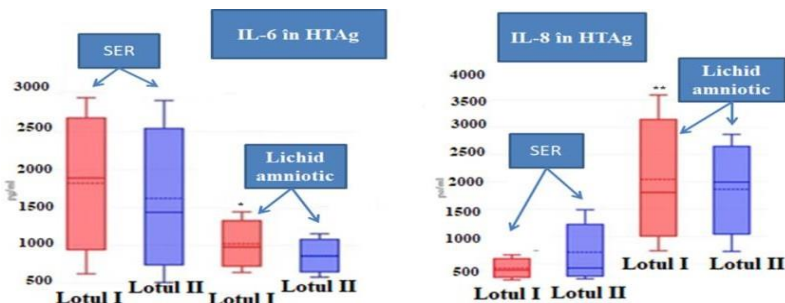


Figura 6. Variațiile ale IL-6 și IL-8 determinate în serul și lichid amniotic în sarcinile complicate prin HIS

Notă: Test t student (ipoteză bilaterală). Datele sunt reprezentate ca medie $\pm$ abaterea standard (SD). * $P < 0,05$ este considerat semnificativ, ** $P < 0,001$ este considerat foarte semnificativ, *** $P < 0,0001$ este considerat extrem de semnificativ.

Nivelul IL-12 în serul sanguin a gestantelor din lotul I, fiind de $719,5 \pm 35,98$ pg/ml, nu diferă statistic semnificativ față de nivelul acestuia în lotul II ($696,9 \pm 34,85$ pg/ml). Totodată, în lichidul amniotic, s-au constatat diferențe semnificative ($p < 0,05$) între nivelurile IL-12 din lotul I și lotul II ($976,07 \pm 48,80$ pg/ml și $855,8 \pm 42,8$ pg/ml), figura 7.

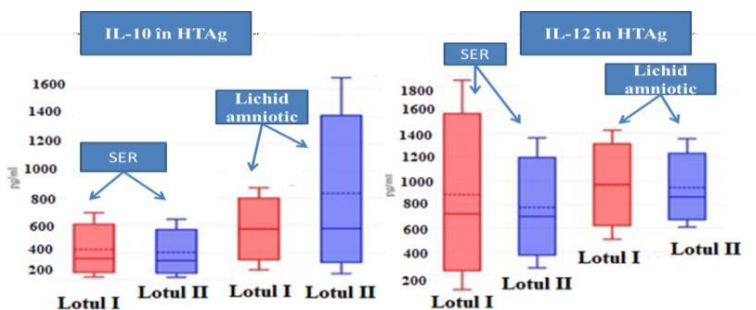


Figura 7. Variațiile ale IL-10 și IL-12 determinate în serul sanguin și lichidul amniotic în sarcinile complicate prin HIS

Notă: Test t student (ipoteză bilaterală). Datele sunt reprezentate ca medie $\pm$ abaterea standard (SD). * $P < 0,05$ este considerat semnificativ, ** $P < 0,001$ este considerat foarte semnificativ, *** $P < 0,0001$ este considerat extrem de semnificativ.

S-a observat, că IL-10 prezintă aceleași diferențe ca și IL-12, fiind statistic nesemnificative în ser și statistic semnificative în lichidul amniotic.

Analiza nivelului antioxidantilor din serul sanguin în evoluția sarcinilor la femeile cu vârsta de peste 35 de ani cu HIS, a scos în evidență următoarele tendințe: valoarea medie a SOD

este statistic semnificativ mai mare în lotul I ($1258,7 \pm 62,9$ u/c), în comparație cu lotul II ($1091,03 \pm 54,6$ u/c) ($p < 0,05$), precum și nivelul GR a fost mai mare în lotul I ($714,52 \pm 32,7$) nM/s.L față de lotul II ($297,60 \pm 14,8$ nM/s.L) ($p < 0,01$).

Indicatorii prooxidanți determinați în lichidul amniotic au prezentat un nivel mai ridicat de HPL izopropil timpuriu în lotul I ($44,18 \pm 2,2$ uc/ml) comparativ cu lotul II ($38,8 \pm 1,9$ uc/ml), la fel ca și indicatorii HPL izopropil intermediar ($11,66 \pm 0,58$ uc/ml și $9,4 \pm 0,47$ uc/ml respectiv) și HPL izopropil tardiv ($3,18$ uc/ml $\pm 0,16$ și $2,59 \pm 0,16$ uc/ml respectiv).

Nașterea prematură. Analizând nașterea prematură (NP) ca și complicație maternă, au la 8 gestante din lotul I, o naștere fiind declanșată în perioada de 33-34 săptămâni, și 7 nașteri premature aproape de termen. În 6 nașteri din 8 a fost înregistrată ruperea prematură a membranelor amniotice (RPMA). Nașterile s-au finalizat per vias naturalis. Masa nou-născuților s-a încadrat, în medie, între 2200-2800 g, scorul Apgar fiind 7-8 puncte.

Variațiile markerilor imuni în serul sanguin și în lichidul amniotic la gestantele, sarcina cărora s-a complicat prin nașterea prematură, sunt prezentate în tabelul 3.

Tabelul 3. Profilul imun în serul sanguin și lichidul amniotic la gestantele cu complicația prin naștere prematură

Mediatori imuni valoarea	În serul gestantelor cu nașteri premature		În lichidul amniotic cu nașteri premature	
	Lotul Ic (Nr=8)	Lotul IIc (Nr=3)	Lotul Ic (Nr=8)	Lotul IIc (Nr=3)
2	3	4	5	6
IL-6 pg/ml	993,8 $\pm$ 49,7	781,6 $\pm$ 39,1	1034,5 $\pm$ 51,7	910 $\pm$ 45,5
IL-8 pg/ml	371,6 $\pm$ 18,6	342,3 $\pm$ 17,1	1815,3 $\pm$ 90,7	1488,6 $\pm$ 74,4*
IL-10 pg/ml	415,9 $\pm$ 20,8	442,3 $\pm$ 22,1	725,1 $\pm$ 36,2	714,6 $\pm$ 35,7
IL-12 pg/ml	647,3 $\pm$ 32,4	515,6 $\pm$ 25,8	1020,3 $\pm$ 51,0	784,6 $\pm$ 39,2
SDF-1a pg/ml	386,8 $\pm$ 19,3	291,3 $\pm$ 14,6	764,4 $\pm$ 38,2	656,6 $\pm$ 32,8
VEGF pg/ml	345,6 $\pm$ 17,3	340 $\pm$ 17,0	1387,3 $\pm$ 69,3*	1078,3 $\pm$ 53,9

Notă: În lotul I c și lotul IIc sunt gestantele cu sarcina concepută prin metoda FIV confruntate în evoluție cu nașterea prematură. Test t student (ipoteză bilaterală). Datele sunt reprezentate ca medie $\pm$ abaterea standard (SD). * $P < 0,05$ este considerat semnificativ

În lichidul amniotic s-a înregistrat o valoare statistic semnificativ mărită de 4 ori a nivelului IL-8 și a factorului VEGF la gestantele din lotul I, comparativ cu cele din lotul II ($p < 0.05$).

Amplificare în lichidul amniotic a chemochinei IL-8 ca mediator, care contribuie la receptivitatea endometrului în prezența embrionului, pentru sarcinile complicate prin NP. Astfel, ipoteza logică, că IL-8, stimulează secreția de progesteron din linia de celule trofoblaste, în situația dată, își exercită rolul prin deleție mărită cu scopul de a menține sarcina. Acest fapt și rezultatele obținute permit de a sugera, că majorarea chemochinei IL-8 în lichidul amniotic este caracteristică pentru gestantele cu risc de apariție a travaliului prematur.

Concentrațiile crescute de VEGF în ambele loturi pentru sarcinile cu NP în evoluție: de 345,6 $\pm$ 17,28 pg/ml (în serul sanguin în lotul I) și de 1387,3 $\pm$ 69,37 pg/ml (în lichidul amniotic în

lotul I), $340 \pm 17,01$ pg/ml (în serul sanguin în lotul II) și, respectiv, de $1078,3 \pm 53,92$ pg/ml (în lichidul amniotic în lotul II) sugerează despre mecanisme de angiogeneza și tendința proinflamatorie la mijloc de trimestru și pot fi markeri predictivi pentru NP.

Se constată că la gestantele, la care evoluția sarcinii s-a finalizat cu NP, inclusiv, cu deces antenatal, amplificarea markerilor antioxidanți a fost mai esențială decât pentru prooxidanți, fapt ce permite de a deduce, că implicarea markerilor antioxidanți și în al doilea trimestru de sarcină, când s-a recoltat materialul biologic în studiu, deja erau implicați în patogenia complicațiilor.

Datele obținute denotă majorarea nivelului antioxidanților în lichidul amniotic și serul sanguin la gestantele cu NP. Valoare medie a AAT izopropil a fost de 22 mM/s.L în lichidul amniotic și 5 mM/s.L în serul sanguin în lotul I, pe când în lotul II valoarea medie a AAT-i a fost 16,5 mM/s.L în lichidul amniotic și 7,9 mM/s.L în serul sanguin. Nivelurile GR, AGE și GPO, la fel, au fost mai ridicate în lichidul amniotic, față de ser, la toate gestantele din loturile I și II.

5.EVALUAREA PROFILULUI IMUN ȘI MARKERILOR STRESULUI OXIDATIV ÎN SARCINILE CONCEPTE PRIN METODA FIV

5.1. Citokinele și markerii imuni în sarcinile concepute prin metoda FIV la femeile cu vârsta de peste 35 de ani

Determinarea în cercetare a citokinelor IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 și a markerilor imuni VEGF, SDF - 1α , s-a bazat pe rolul lor în organismul uman, inclusiv implicarea timpurie în coordonarea răspunsului imun în stările patologice și în procesele de adaptare. S-a ținut cont de datele științifice, că IL-8 este un predictor al potențialului de dezvoltare embrionară în evaluarea pre-transfer a embrionilor și ratele de sarcină și de implantare, precum și numărul de născuți vii per FIV, sau injecție intracitoplasmatică de spermă, au fost mai mari, atunci, când mediul condiționat pre-transfer conținea IL-8. Ipoteza migrației celulelor imune în organism spre proces patologic a servit motiv pentru a determina markerii imuni SDF-1- α (chemochina stromală derivată din factorul 1, varianta alfa), implicată în sistemul imun, și VEGF implicat în dezvoltarea endotelială vasculară.

Analiza comparativă a markerilor determinați în trimestrul al doilea de sarcină în serul matern și lichidul amniotic la gestantele din ambele loturi fără anamneză antenatală complicată nu a identificat diferențe concludente între loturi.

În același timp s-a constatat, că markerii imuni IL-8, IL-10, IL-12, SDF-1a și VEGF au valori medii mai înalte în lichidul amniotic, decât în serul sanguin, pentru categoria de gestante cu sarcina concepută prin FIV, și în cazurile, când evoluția lor a decurs fără particularități. Merită de remarcat, că unii markeri cum este IL-8 și VEGF înregistrează creșterea valorilor medii de 3 - 4 ori mai mare la gestantele din lotul I determinați în lichidul amniotic.

Valorile statistic semnificative ale markerilor determinați în lichidul amniotic au fost pentru VEGF ($p=0,0001$). Astfel, VEGF cu valoarea medie în lotul I_s este de $1244,59 \pm 62,23$ pg/ml, atunci când în lotul II_s este mai diminuat, fiind de $1042,48 \pm 52,12$ pg/ml, (reducerea cu 16,2 la sută). Aceste situații pentru sarcinile concepute prin metoda FIV, pot fi explicate prin ipoteza influenței

progesteronului administrat implicat, conform protocolului de menținere a sarcinilor concepute prin metoda FIV, poate avea și impact asupra markerilor imuni.

5.2. Determinarea statusului oxidant și antioxidant în sângele gestanțelor cu vârsta de peste 35 de ani cu sarcinile concepute prin metoda FIV

La acest subcapitol al studiului au fost analizați markerii stresului oxidativ determinați la toate gravidele sarcinile cărora au evaluat fără complicații grave, care au fost recoltați în trimestrul al doilea de sarcină din serul matern, a câte 11 markeri ai sistemului prooxidant (din 3 categorii: radicali liberi, derivații de oxigen non-radicali și substanțe tiol-reactive) și 11 modulatori antioxidanți din categoriile: enzimatici (de exemplu, superoxidismutaza (SOD), Catalaza (CAT) și glutatión peroxidaza GP, etc.) și neenzimatici (glutation, peptide histidinice – carnozina), molecule, toate fiind antioxidanți endogeni.

Se constată, că odată cu vârsta gestanțelor, nivelul markerilor din serul sanguin și lichidul amniotic, în sarcinile care au fost concepute prin metoda FIV, s-a redus, pe când tot acești markeri, în sarcinile concepute natural, cu înaintarea în vârstă, au avut tendință de a se majora. Glutathion peroxidaza (GPO) în lotul I, unde vârsta medie este de 41 de ani înregistrează parametrii de $1489,70 \pm 74,48$ nM/s.L și, respectiv, în intervalul cu vârsta medie de 48 de ani deja este o reducere cu $3,6 \pm 0,18\%$ fiind de $1437,43 \pm 71,85$ nM/s.L; atunci când în lotul II se înregistrează cifre mai mari, aproape cu 80 la sută, pentru GPO - de $2288,02 \pm 114,4$ nM/s.L pentru categoria de gestante cu vârsta medie de 41 de ani și, respectiv, de $2710,49 \pm 135,52$ nM/s.L pentru categoria cu vârstă medie de 48 de ani.

5.3. Markerii oxidanți și antioxidanți determinați în lichidul amniotic la gestantele cu vârsta de peste 35 de ani, sarcinile concepute prin metoda FIV

Au fost analizate datele privind calitatea echilibrului sistemului oxidativ-antioxidant în lichidul amniotic la trimestrul al doilea de gestație cu corelarea acestora cu particularitățile evoluției și nașterii. Rezultatele au fost confirmate cu ajutorul analizei de regresie. Valorile medii pentru compușii de glicare avansată (AGE) au fost de 3 ori mai mari decât în lichidul amniotic. De asemenea, o tendință de majorare a fost identificată pentru produșii ai modificărilor oxidative ale proteinelor (PPOA) și dialdehida malonică (DAM).

Analizând parametrii obținuți la gravidele sarcina cărora a fost concepută prin metoda FIV, respectiv incuși în lotul I, constatăm, că toți mediatorii cu funcții prooxidante sunt mai reduși decât în lotul II, care au conceput sarcina natural.

Activitatea antioxidantă totală exprimată prin markerul AAT-hexan și AAT-izopropil prezintă valori mai ridicate în lotul I, față de lotul II, totodată fiind nesemnificativ statistic. De remarcat, că se atestă o majorare de 3 ori a nivelului Glutathion-S-transferazei (GST) – enzimă, care reprezintă un răspuns antioxidant pentru unii metaboliți toxici generați în organism, cum ar fi hidroperoxizi lipidici în lichidul amniotic recoltat de la gestantele incluse în lotul I, față de lotul II. Diferențe statistic semnificative ale s-au înregistrat între nivelurile antioxidanților din lichidul amniotic recoltat de la gestantele din lotul I, comparativ cu lotul II, pentru Glutathion S-transferaza (GST), $p \leq 0,001$, activității antioxidante totale în faza hexanică (AAT-hexan) $p \leq 0,001$, și la Glutathion peroxidaza (GPO)- $p \leq 0,001$.

SINTEZA REZULTATELOR OBȚINUTE

Rezultatele cercetării au atins scopul scontat, fiind identificate corelări între variația biomarkerilor imuni, citokinelor și markerilor statusului antioxidant la etape, care anticipează manifestările clinice ale complicațiilor înregistrate, atât în serul sanguin, cât și în substratul biologic recoltat din lichidul amniotic. Aceste concluzii se încadrează în actualitatea problemelor ce țin de perfecționarea siguranței nașterilor și importanța unui diagnostic precoce a proceselor patofiziologice declanșate în sarcină, care, la rândul său, se conturează în hipertensiunea indusă de sarcină, preeclampsia și naștere prematură.

Totodată, rezultatele obținute în cercetare încurajează atât cuplurile, care se confruntă cu infertilitatea și alte probleme ce țin de sănătatea organelor de reproducere, cât și femeile cu vârsta de peste 35 de ani, pentru a obține o șansă de a concepe și de a menține o evoluție echilibrată a sarcinii, în pofida riscurilor pre-existente.

Combinarea monitorizării evoluției clinice a sarcinilor concepute prin metoda FIV la gestantele cu vârsta de peste 35 de ani cu determinarea și analiza comparativă a expresiei markerilor imuni și celor ai profilului antioxidant în serul sanguin și lichidul amniotic în trimestrul al doilea de sarcină, oferă concluzii bazate pe dovezi privind importanța lor prognostică privind inițierea proceselor patfiziologice caracteristice complicațiilor în sarcină.

Concomitent, în cercetare s-a aplicat o abordare sistemică a factorilor cu impact pentru evoluția sarcinii, cum ar fi demografici (vârsta la căsătorie, la prima sarcină, tendințele de amânare a nașterii primului copil cu reducerea potențialului fertilității), sociali (mediul de reședință, statutul ocupațional, nivelul educațional) și atitudinea față de prima sarcină. O categorie importantă o dețin factorii medicali, inclusiv antecedentele extragenitale, ginecologice și obstetricale, parametrii fizici, clinici și paraclinici la etapa concepției și pe parcursul evoluției sarcinii.

Rezultatele studiului demonstrează, că profilul pe vârste a fertilității, mediul de reședință a gravidelor, nivelul de educație și atitudinea față de tradițiile familiale sunt factorii cu impact și potențial risc în anumite circumstanțe, fapt ce necesită realizarea de acțiuni în scopul eficientizării măsurilor de supraveghere și conduită la etapa planificării familiei, concepției și evoluția sarcinii în siguranță.

Datele obținute confirmă, că în $53,2 \pm 2,66$ la sută din sarcini concepute la femeile cu vârsta de peste 35 de ani sunt pentru prima dată, fapt ce confirmă amânarea nașterii primului copil după vârsta de 35 de ani, această tendință fiind mai mare în rândul femeilor cu domiciliul în localitățile urbane. În cohorta studiului, gestantele cu domiciliu în localitățile rurale sunt în minoritate, respectiv $28,8 \pm 1,4\%$ (lotul I) și $43,2 \pm 2,2\%$ (lotul II), față de cele cu domiciliu urban.

S-a constatat, că educația deasemenea influențează complexul de comportamente sociale, inclusiv reproducerea, și necesită a fi inclusă în screeningul riscurilor pentru sarcinile la gravidele cu vârsta înaintată. Ponderea femeilor cu studii superioare în categoria gravidelor cu sarcina concepută prin metoda reproducerii asistate uman, predomină categoria gravidelor cu studiile superioare, proporția fiind de $69,2 \pm 3,46\%$ față de $39,8 \pm 1,99\%$ la studii medii și generale.

În cercetare a fost monitorizată și realizată analiza comparativă a evoluției sarcinilor la femeile cu vârsta avansată, inclusiv, cu diferențierea după intervalul de vârstă cu media de 41 de

ani și a celor încadrate în intervalul de vârstă cu media de 48 de ani; cu conceperea sarcinii prin metoda FIV și natural; între gestantele, care au înregistrat pe parcursul evoluției sarcinii complicații prin hipertensiunea indusă de sarcină, preeclampsie și nașteri premature și gestantele sarcinile cărora au evaluat fără particularități.

Patologiile extragenitale asociate sarcinii, așa cum pielonefrita cronică primară, vene varicoase ale extremităților inferioare, obezitatea pentru gestantele cu vârsta peste 35 de ani și pe fundal de remisiune la etapa concepției, rămân în categoria de riscuri majore pentru complicații induse de sarcină.

Rezultatele studiului au demonstrat, că gestantele cu sarcina concepută prin metoda FIV au un risc mai mare de majorare a ponderii în timpul sarcinii, una din explicații fiind medicația specifică reproducerii umane asistate medical. Astfel, un adaos ponderal majorat pe parcursul evoluției sarcinii s-a constatat la $14,7 \pm 0,74\%$ din gravidele din lotul I și la $6,3 \pm 0,32\%$ din gravide cu sarcina concepută natural în lotul II.

Rezultatele cercetării constată, că la una din trei gestante din lotul I și la una din două gestante în lotul II în anamneza obstetricală au fost înregistrate complicații, care la rândul său, fie și în remisiune completă la etapa de concepere a sarcinii, rămân un factor favorizant major pentru agravarea diferitor particularități morbide cu impact matern și fetal.

Merită de remarcat, că markerii: IL-8 și VEGF cu variația valorilor statistic semnificativă, caracteristic pentru gestantele din ambele loturi, reflectă modularea imună continuă în circumstanțele date în concordanță cu scopul menținerii sarcinii. Atunci, când prooxidanții nu au demonstrat variații semnificative, s-a observat tendința amplificării mediatorilor antioxidanți în serul sanguin, și în lichidul amniotic la gestantele din lotul I.

De menționat, că incidența complicațiilor a fost mai mare la sarcinile concepute prin FIV pentru HIS, cota lor în lotul I fiind de 14% față de 9% în lotul II; preeclampsia, care în lotul I s-a declanșat la 5 gestante, în lotul II nu s-a înregistrat; nașteri premature, proporția pe loturi fiind de 7,2% și respectiv 2,7%.

Rezultate obținute fundamentează implicarea biomarkerilor profilului imun IL-6, IL-8 și IL-12 în prognosticul timpuriu al complicațiilor prin HIS, preeclampsie și nașteri premature la sarcinile concepute prin metoda FIV la gestantele cu vârsta de peste 35 de ani.

Astfel, citokina IL-6, în trimestrul al doilea de sarcină, are o amplificare prognostică $p \leq 0,001$ în serul gestanțelor pentru sarcinile în care s-au declanșat HIS și preeclampsia. Rata de detectare și concentrația medie a IL-12, cu date semnificativ statistice ($**p < 0,05$) atât în serul sanguin, cât și în lichidul amniotic în sarcinile, la care ulterior s-au declanșat preeclampsii, sugerează implicarea acestei citokine în răspunsul imun sporit caracteristic acestei complicații. În studiul „Plasma IL-12 is elevated in patients with preeclampsia”, privind răspunsul la IL-12, se constată că, lanțul IL-12Rp2 conține resturi de tirozină în domeniul său citoplasmatic și este considerată componenta de semnalizare a receptorului. De asemenea, în multe rapoarte se conțin caracteristici ale efectelor IL-12 asupra celulelor T și NK, în special cele legate de capacitatea sa de a promova producția de IFN- γ în timpul infecției și inflamației [31]. Aceste studii au ajutat la stabilirea principiului, că capacitatea înăscută a celulelor dendritice de a recunoaște agenții

patogeni a condus la producerea de IL-12, care a furnizat semnale instructive critice pentru a susține răspunsurile Th1.

La gestantele din ambele loturi, sarcina căreia s-a complicat prin nașterea prematură, în lichidul amniotic s-au determinat semnificativ statistic concentrațiile medii pentru chemochina IL-8 și factorul VEGF ($p < 0,001$) față de valorile medii obținute în ser. Chemochina IL-8, mediatorul care contribuie la receptivitatea endometrului în prezența embrionului în sarcini care s-au complicat cu nașteri premature, permit a explica amplificarea lor majorată în lichidul amniotic drept consecința a interrelației acestora.

Este oportună ipoteza logică, că IL-8 stimulează secreția de progesteron din linia de celulele trofoblaștilor, exercitându-și astfel rolul de a menține sarcina prin deleție mărită. Acest fapt și rezultatele obținute permit de a sugera, că majorarea chemochinei IL-8 în lichidul amniotic este caracteristică pentru gestantele cu risc de apariție a travaliului prematur. Concentrațiile crescute de VEGF în ambele loturi pentru sarcinile cu nașteri premature, sugerează angiogeneză și tendința de inflamație la mijlocul trimestrului și pot fi considerate predictive pentru complicația menționată.

Analiza comparativă a particularităților clinice din perioada evoluției sarcinii și corelarea acestora cu variația markerilor oxidanți și antioxidanți determinați în ser și în lichidul amniotic în trimestrul II de sarcină, identifică valori statistic semnificative $p \leq 0,001$ pentru o categorie de antioxidanți în lichidul amniotic: AAT- în fazele hexanică (activitate antioxidantă totală), gama-glutamyltranspeptidaza (γ -GPT), glutathion S-transferaza (GST), grupele tiolice ale proteinei și glutathion peroxidaza (GPO).

Științific este demonstrat rolul mediatorilor imuni și ai stresului oxidativ cu caracteristici de precizie, din trimestrul doi de gestație, a riscului complicațiilor în sarcină, fapt ce permite elaborarea unei conduite timpurii orientate spre prevenirea evoluției cu impact vital pentru sănătatea maternă și fetală.

Monitorizarea clinică a evoluției asociată cu variația biomarkerilor imuni, citokinelor și stresului oxidativ determinați din ser și lichidul amniotic, în trimestrul doi de sarcină se apreciază, ca valoare predictivă a posibilelor complicații prin HIS, preeclampsie și NP.

Analiza comparativă a gradului de amplificare a citokinelor pro- și antiinflamatoare, precum și variația biomarkerilor ai stresului oxidativ determinați în serul matern și lichidul amniotic la etapa trimestrului doi în sarcinile concepute prin metoda FIV și cele concepute natural la femeile cu vârsta de peste 35 de ani, oferă material statistico-științific bazat pe dovezi pentru cercetările ulterioare.

Pentru patologii induse de sarcină - HIS, preeclampsia și nașterea prematură, s-au identificat markerii determinați din serul sanguin și lichidul amniotic, care au fost incluși în algoritmul de conduită elaborat în cercetare. Triajul sarcinilor cu risc anticipat declanșării clinice, oferă timp pentru echipa medicală și gestantă de a identifica și aplica o conduită conformă riscurilor, cu măsuri de prevenire corespunzătoare.

CONCLUZII GENERALE

1. În evoluția sarcinilor concepute prin metoda fertilizării in vitro (FIV) la femeile cu vârsta de peste 35 de ani, manifestarea stărilor hipertensive induse de sarcină, preeclampsiei și nașterilor premature, este anticipată prin dezechilibrul statusului imun și augmentarea stresului oxidativ, începând cu al doilea trimestru de sarcină.

2. Rezultatele obținute în cazul hipertensiunii induse de sarcină și preeclampsiei, declanșate clinic la finele trimestrului trei în sarcinile concepute prin metoda FIV la gestantele cu vârsta de peste 35 de ani, denotă o creștere semnificativă a nivelului citokinelor ($p < 0,001$): IL-6, și IL-12 în serul sanguin și IL-8 și IL-12 în lichidul amniotic; în cazul nașterilor premature, amplificarea statistic semnificativă atât a citokinelor ($p < 0,05$): IL-8 și IL-12, cât și a factorului vascular endotelial de creștere (VEGF) în lichidul amniotic, pot indica la un status proinflamator exprimat, începând cu trimestrul al doilea de sarcină.

3. Evoluția sarcinilor concepute prin FIV, la femeile cu vârsta de peste 35 de ani, complicate prin hipertensiunea indusă de sarcină, preeclampsie și naștere prematură este însoțită de creșterea nivelului antioxidantilor în lichidul amniotic în al doilea trimestru de sarcină (săptămânile 14-20 de gestație), cu semnificație statistică ($p < 0,05$), pentru: activitate antioxidantă totală (AAT) în faza hexanică, gama-glutamil transpeptidaza (γ - GPT), glutation s-transferaza (GST), și glutation peroxidaza (GPO), ceea ce confirmă implicarea timpurie a sistemului antioxidant, comparativ cu manifestările clinice.

4. Rezultatele cercetării nu au identificat diferențe concludente în variația biomarkerilor imuni și ai stresului oxidativ, atât în serul sanguin, cât și în lichidul amniotic, pentru sarcinile concepute prin metoda FIV și cele concepute pe cale naturală, în situația în care antecedentele medicale nu au prezentat riscuri semnificative.

5. Problema științifică s-a rezumat la aprecierea rolului statusului imun și al stresului oxidativ în mecanismele patogenetice de dezvoltare a complicațiilor în evoluția sarcinii obținute prin metoda FIV la femeile cu vârsta de peste 35 de ani.

RECOMANDĂRI PRACTICE

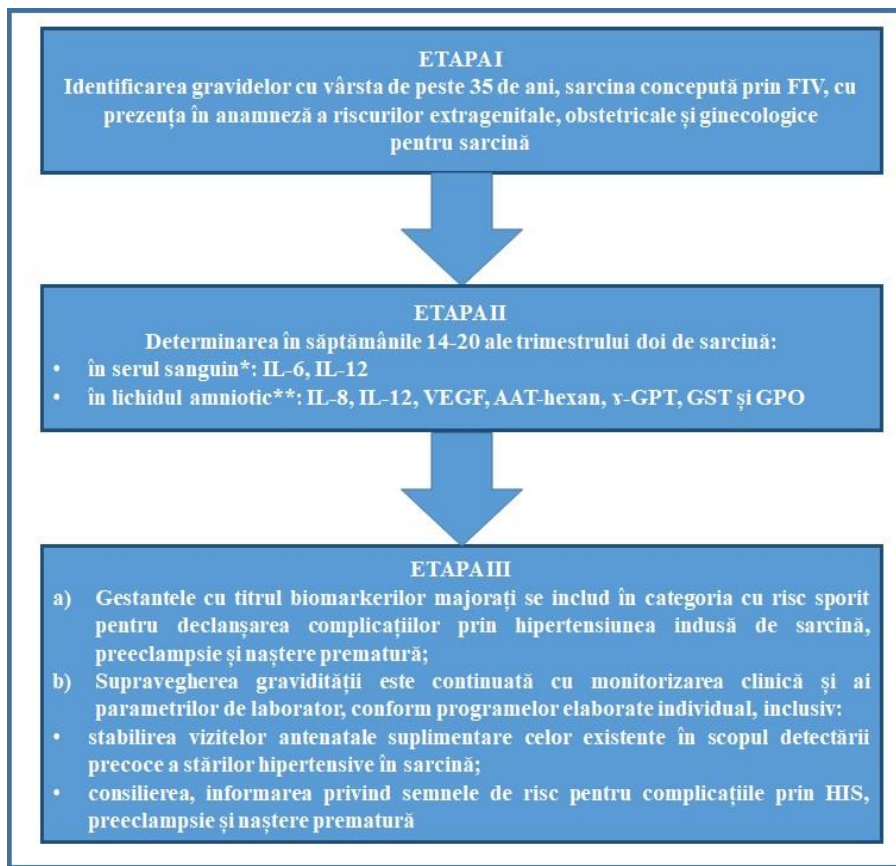
1. Femeile cu vârsta de peste 35 de ani, sarcina cărora a fost concepută prin metoda FIV, urmează să fie supravegheate conform unui program individualizat, în funcție de riscurile antenatale identificate, asociat cu determinarea în serul sanguin și în lichidul amniotic, în al doilea trimestru de sarcină, biomarkerii imuni și antioxidanții, cu vigilență la complicațiile în sarcină prin hipertensiune indusă de sarcină, preeclampsia și naștere prematură.

2. Identificarea amplificării în serul sanguin atât a IL-6, IL-12 și în lichidul amniotic a IL-8, IL-12, VEGF, cât și a antioxidanților: activitate antioxidantă totală (AAT) în faza hexanică, gama-glutamyl transpeptidaza (γ -GPT), glutathion s-transferaza (GST) și glutathion peroxidaza (GPO) în trimestrul al doilea (săptămânile 14-20 de gestație), pot fi considerate prognostice pentru evoluția sarcinii cu complicații prin HIS, preeclampsie și naștere prematură la gestantele cu vârsta de peste 35 de ani.

3. Datele obținute în studiu privind rolul modificărilor statusului imun și stresului oxidativ în dezvoltarea complicațiilor sarcinilor concepute prin FIV, vor fi incluse în curriculum universitar și de educație continuă.

4. În supravegherea antenatală a gestantelor cu vârsta de peste 35 de ani și sarcină concepută prin FIV se recomandă realizarea triajului gravidelor în trimestrul al doilea de sarcină conform algoritmului elaborat (anexa 4).

Anexa 4. Algoritmul de triaj al gestantelor cu vârsta de peste 35 de ani, sarcină concepută prin metoda FIV, pentru riscul complicațiilor de hipertensiune indusă de sarcină (HIS), preeclampsie și naștere prematură (NP)



Notă:

*Markerii determinați din sângele matern:

IL-6 Interleukina 6;
IL-12 Interleukina 12;

**Markerii determinați din lichidul amniotic:

IL-8 Interleukina 8;
IL-12 Interleukina 12;
VEGF Factor vascular de creștere;
AAT hexan Activitate antioxidantă totală;
γ-GPT Gama-glutamyltranspeptidaza;
GST Glutation S-transferaza;
GPO Glutation peroxidaza;

BIBLIOGRAFIE

1. Adaptarea Agendei de Dezvoltare Durabilă 2030 la contextul Republicii Moldova, Raport în cadrul proiectului „Naționalizarea Agendei de Dezvoltare Durabilă în contextul Republicii Moldova”, implementat de PNUD Moldova
https://www.undp.org/sites/g/files/zskgke326/files/migration/md/Targets_UNU_RO.pdf
2. Legea RM nr. 138 din 15-06-2012, privind sănătatea reproducerii (Publicat: 28-09-2012 în Monitorul Oficial Nr. 205-207 art. 673)
https://www.legis.md/cautare/getResults?doc_id=135028&lang=ro#
3. HG nr. 681 din 11-07-2018 pentru aprobarea Programului național privind sănătatea și drepturile sexuale și reproductive pentru anii 2018-2022, Publicat: 21-09-2018 în Monitorul Oficial Nr. 358-364 art. 951 (p.5, 9,10)
https://www.legis.md/cautare/getResults?doc_id=108813&lang=ro
4. GAGAUZ O. „, Analiza Situației Populației: Republica Moldova pe calea spre o societate îmbătrânire, elaborată de Centrul de Cercetări Demografice la decizia Comisiei Naționale pentru Populație și Dezvoltare în baza Metodologiei Globale a UNFPA cu privire la Analiza Situației Populației”. (pag.9)
https://moldova.unfpa.org/sites/default/files/pub-pdf/PSA_RO.pdf
5. KARÁCSONY J.Á., Avizul Comitetului European al Regiunilor – Schimbările demografice: propuneri privind măsurarea și combaterea efectelor negative în regiunile UE (2020/C 440/07), In: Jurnalul Oficial al Uniunii Europene C 440/33 <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/RO/TXT/PDF/?uri=CELEX:52019IR4647&from=EN>
6. JOLLY M, SEBIRE N, HARRIS J, ROBINSON S, REGAN L. Riscurile asociate cu sarcina la femeile cu vârsta de 35 de ani sau mai mult . Hum Reprod 2000;
7. WATANABE S, KAWAMOTO S, OHTANI N, HARA E. Impactul fenotipului secretor asociat senescentei și potențialul său ca țintă terapeutică pentru bolile asociate senescentei. Cancer Sci 2017; 108: 563–569.
8. HIRATA Y, KATSUKURA Y, HENMI Y, et al. Advanced maternal age induces fetal growth restriction through decreased placental inflammatory cytokine expression and immune cell accumulation in mice. J Reprod Dev. 2021 Aug 27;67(4):257-264. doi: 10.1262/jrd.2021-034. Epub 2021 Jun 28. PMID: 34176822; PMCID: PMC8423608.
9. EUROSTAT. Biroul statistic al UE. Tema statistică: Populația și condițiile sociale. https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Fertility_statistics
10. LIU K., CASE A.; Reproductive Endocrinology and Infertility Committee. Advanced reproductive age and fertility. J Obstet Gynaecol Can. 2011 Nov;33(11):1165-1175. doi: 10.1016/S1701-2163(16)35087-3. PMID: 22082792.

11. GALLAGHER J. More about natural family planning. In: Aust Fam Physician. 1983 Nov;12(11):786-92. PMID: 6667188.
12. KWEE J, SCHATS R, MCDONNELL J, THEMME A. Evaluation of anti-Müllerian hormone as a test for the prediction of ovarian reserve. In: Fertil Steril. 2008 Sep; 90(3):737-43. doi: 10.1016/j.fertnstert.2007.07.1293. Epub 2007 Oct 17. PMID: 17923131.
13. NARDO LG, GELBAYA TA, WILKINSON H, ROBERTS SA. Circulating basal anti-Müllerian hormone levels as predictor of ovarian response in women undergoing ovarian stimulation for in vitro fertilization. In: Fertil Steril. 2009 Nov;92(5):1586-93. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.08.127. Epub 2008 Oct 18. PMID: 18930213.
14. SUN W, STEGMANN BJ, HENNE M, CATHERINO WH, SEGARS JH., A new approach to ovarian reserve testing. In: Fertil Steril. 2008 Dec;90(6):2196-202. doi: 10.1016/j.fertnstert.2007.10.080. Epub 2008 Apr 22. PMID: 18433750; PMCID: PMC2655110.
15. BALASCH J, CREUS M, FÁBREGUES F, CARMONA F, CASAMITJANA R., Inhibin, follicle-stimulating hormone, and age as predictors of ovarian response in in vitro fertilization cycles stimulated with gonadotropin-releasing hormone agonist-gonadotropin treatment. In: Am J Obstet Gynecol. 1996 Nov;175(5):1226-30. doi: 10.1016/s0002-9378(96)70032-7. PMID: 8942492.
16. DELCEA (VOICAN) A-Ş., Reserva ovariană: evaluarea markerilor de prognostic și studiul genetic al insuficienței ovariene. Rezumatul tezei de doctorat, Craiova 2011, 42 pag.
17. DUMITRESCU. M., teză de doctorat „Diagnosticul genetic prenatal prin biopsie de trofoblast, Universitatea de Medicină și Farmacie “Carol Davila” București Rezumat-teza-doctorat-Mihai.pdf (umfcd.ro)
18. LASH GE, ERNERUDH J. Decidual cytokines and pregnancy complications: focus on spontaneous miscarriage. J Reprod Immunol. 2015 Apr; 108:83-9. doi: 10.1016/j.jri.2015.02.003. Epub 2015 Feb 28. PMID: 25771398.
19. SZEKERES-BARTHO J. Immunological relationship between the mother and the fetus. Int Rev Immunol. 2002 Nov-Dec;21(6):471-95. doi: 10.1080/08830180215017. PMID: 12650238.
20. IMSEIS HM, GREIG PC, LIVENGOD CH 3RD, SHUNIOR E, DURDA P, ERIKSON M. Characterization of the inflammatory cytokines in the vagina during pregnancy and labor and with bacterial vaginosis. J Soc Gynecol Investig. 1997 Mar-Apr;4(2):90-4. PMID: 9101468
21. MURAILLE E., LEO O. „Revisiting the Th1/Th2 Paradigm” Laboratoire de Physiologie Animale, Département de Biologie Moléculaire, Université Libre de Bruxelles, Rhode-St-Gene'se, Belgium (Received 26 July 1997; Accepted 21 August 1997) <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1365-3083.1998-47-1.00383>.

22. PIETRO L., DAHER S., RUDGE M.V.C., CALDERON I.M.P., DAMASCENO D.C., SINZATO Y.K., BANDEIRA C., BEVILACQUA E., Vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF-receptor expression in placenta of hyperglycemic pregnant women, Issue 9, 2010, Pages 770-780, ISSN 0143-4004, <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2010.07.003>
23. JOO, EH; KIM, YR; KIM, N.; JUNG, JE; HAN, SH; CHO, HY Efectul declanșatorilor de stres oxidativ endogen și exogen asupra rezultatelor adverse ale sarcinii: preeclampsie, restricție de creștere fetală, diabet zaharat gestațional și naștere prematură. Int. J. Mol. Sci. 2021, 22, 10122. <https://doi.org/10.3390/ijms221810122>
24. BRUNA RIBEIRO DE ANDRADE RAMOS. Influența stresului oxidativ și reglarea încrucișată a autofagiei asupra rezultatului sarcinii PMID: 27383757 PMCID: PMC5003807 DOI: 10.1007/s12192-016-0715-3 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27383757/>
25. HUSSAIN T, MURTAZA G, METWALLY E, KALHORO DH, KALHORO MS et al. The Role of Oxidative Stress and Antioxidant Balance in Pregnancy. In: Mediators Inflamm. 2021 Sep 27;2021:9962860. doi: 10.1155/2021/9962860. PMID: 34616234; PMCID: PMC8490076.
26. DOBROVOLSKAIA-CATRINICI A., "Particularitățile evoluției sarcinii la femeile după 35 de ani: avantaje și preocupări [Particularities of pregnancy evolution in women after 35years old: advantages and concerns]." In: Public health, economy and management in medicine 2.41 (2012): 41-5.
27. DOBROVOLSKAIA-CATRINICI, A., Preterm birth prediction in pregnant women over than 35 years. Observational analytical cohort study. In: Revista de Științe ale Sănătății din Moldova, 2023, vol. 10, nr. 2, pp. 16-20. ISSN 2345-1467. DOI: 10.52645/MJHS.2023.2.03
28. CUNNINGHAM MW JR, LAMARCA B. Risk of cardiovascular disease, end-stage renal disease, and stroke in postpartum women and their fetuses after a hypertensive pregnancy. In: Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2018 Sep 1;315(3):R521-R528. doi: 10.1152/ajpregu.00218.2017. Epub 2018 Jun 13. PMID: 29897824; PMCID: PMC6172627.
29. GLICK I, KADISH E, ROTTENSTREICH M. Management of Pregnancy in Women of Advanced Maternal Age: Improving Outcomes for Mother and Baby. In: J Womens Health. 2021 Aug 10; 13:751-759. doi: 10.2147/IJWH.S283216. PMID: 34408501; PMCID: PMC8364335.
30. CORREA-DE-ARAUJO R, YOON SSS. Clinical outcomes in high-risk Pregnancies Due to Advanced Maternal Age. J Womens Health (Larchmt). 2021 Feb;30(2):160-167. doi: 10.1089/jwh.2020.8860. Epub 2020 Nov 13. PMID: 33185505; PMCID: PMC8020515.
31. TRINCHIERI G, PFLANZ S, KASTELEIN RA. The IL-12 family of heterodimeric cytokines: new players in the regulation of T cell responses. Immunity.2003 Nov;19(5):641-4. doi: 10.1016/s1074-7613(03)

LISTA PUBLICAȚIILOR LA TEMA TEZEI

1. Articole în reviste științifice

1.1. în reviste din Registrul Național al revistelor de profil, cu includerea categoriei: categoria B+

- 1.1.1. DOBROVOLSKAIA, A. Preterm birth prediction in pregnant women over than 35 years. Observational analytical cohort study; In: *Revista de Științe ale Sănătății din Moldova*, Mold J Health Sci. 2023; 10(2): pp. 16-20.
https://repository.usmf.md/bitstream/20.500.12710/25113/1/Aliona_Dobrovolskaia._Preterm_bi%20rth_prediction_in_pregnant_women_over_than_35_years._Observational_analytical_cohort_stu%20dy.pdf
- 1.1.2. DOBROVOLSKAIA-CATRINICI, A., Particularitățile evoluției sarcinii la femeile după 35 de ani: avantaje și preocupări, In: *Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină*, pp. 41-44, Nr. 2(41) / 2012 / ISSN 1729-8687 / ISSNe 2587-3873
https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/41-44_30.pdf
categoria C
- 1.1.3. DOBROVOLSKAIA-CATRINICI, A., MOȘIN, V. Incidența complicațiilor în sarcina obținută prin metoda fiv la gravidele peste 35 ani, In: *Analele Științifice ale USMF „N. Testemițanu”*, pp. 90-93, Nr. 5(14) / 2013 / ISSN 1857-1719
https://repository.usmf.md/bitstream/20.500.12710/5311/1/INCIDENTA_COMPLICATII_LOR_IN_SARCINA_OBTINUTA_PRIN_METODA_FIV_LA.pdf
- 1.1.4. CAPROS, H., HALABUDENCO, E., SPRINCEAN, M., BARBOVA, N., STRĂTILĂ, M., DOBROVOLSKAIA-CATRINICI, A., SECRIERU, V., NOUR, V., Factori de risc la gravidele cu risc de malformații embrio-fetale, In: *Analele Științifice ale USMF „N. Testemițanu”*, pp.43-47, Nr. 5(14) / 2013 / ISSN 1857-1719
https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/Factori%20de%20risc%20la%20gravidele%20cu%20risc%20de%20malformatii.pdf
categoria B+
- 1.1.5. DOBROVOLSKAIA-CATRINICI, A., GUDUMAK, V., MOSHIN, V., TODIRAȘ, M. Predictive role of cytokines level in amniotic fluid and maternal blood in the possible development of gestational hypertension, In: *Curierul Medical*, pp. 3-7, Nr. 4(56) / 2013 / ISSN 1875-0666
https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/Predictive%20role%20of%20cytokines%20level%20in%20the%20amniotic%20fluid%20and%20maternal%20blood%20in%20the%20possible%20development%20of%20gestational%20hypertension.pdf
categoria B
- 1.1.6. DOBROVOLSKAIA-CATRINICI, A., MOȘIN, V., STRĂTILĂ, M., Detectarea prenatală a anomaliilor congenitale prin metode invazive în Republica Moldova, riscuri și beneficii, în *Buletin de Perinatologie*, pp. 15-18, Nr. 1(57) / 2013 / ISSN 1810-5289
<https://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/16798>
- 1.1.7. DOBROVOLSKAIA-CATRINICI, A., MOȘIN V., HALABUDENCO, E., STRĂTILĂ, M. Aplicarea metodelor invazive în diagnosticul prenatal: retrospectiva

rezultatelor pe anii 2009- 2011, In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*, pp. 172-175, Nr. 4(36) / 2012 / ISSN 1857-0011

https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/Aplicarea%20metodelor%20invazive%20in%20diagnosticul%20prenatal%20retrospectiva%20rezultatelor%20pe%20anii%202009-2011.pdf

categoria C

- 1.1.8. MOȘIN, V., DOBROVOLSKAIA - CATRINICI, A., HALABUDENCO, E., SACARĂ, V., STRĂTILĂ, M. Incidența anomaliilor cromozomiale în dependență de vârsta grăvidelor, diagnosticul pre și postnatal în Republica Moldova, In: *Analele Științifice ale USMF „N. Testemițanu”*, pp. 69-73, Nr. 5(13) / 2012 / ISSN 1857-1719
https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/15.Incidenta%20anomaliilor%20cromozomiale%20in%20dependenta%20de%20virsta%20gravidelor.pdf

2. Teze în culegeri științifice

2.1. în lucrările conferințelor științifice internaționale (peste hotare)

- 2.1.1. SPRINCEAN, M., HALABUDENCO, E., STRĂTILĂ, R., SECRIERU, V., NOUR, V., BARBOVA, N., DOBROVOLSKAIA-CATRINICI, A., CAPROȘ, C. The role of medical - genetic counseling and of prenatal diagnosis in the process of identification of congenital malformations, In: *Archives of the Balkan Medical Union* Supliment Nr. S3(48) / 2013 , pp. 58, ISSN 0041-6940

https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/p-58b.pdf

2.2. în lucrările conferințelor științifice internaționale (Republica Moldova)

- 2.1.2. DOBROVOLSKAIA-CATRINICI, A. Importanța citokinelor în pronosticul decolării premature a placentei la gravide cu vârsta peste 35 ani. In: *Conferința științifică anuală, cercetarea în biomedicină și sănătate, Analele Științifice ale USMF „N. Testemițanu”*, 2013, nr. 5(14), pp. 86-90. ISSN 1857-1719.

https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/Importanta%20citokinelor.pdf

3. Brevete de invenții și alte obiecte de proprietate intelectuală, materiale la saloanele de invenții

- 3.1. DOBROVOLSKAIA, A., MOȘIN, V., TODIRAȘ, M. *Aplicarea modelelor predictive în evoluția sarcinii obținute prin metoda fertilizării in vitro la femei peste 35 de ani în baza citochinelor și stresului oxidativ în perioada trimestrului II de gestație*. Certificat de inovator nr. 6079 din 09.06.2023. Actul de implementare a inovației nr. 523.
- 3.2. DOBROVOLSKAIA, A., MOȘIN, V., TODIRAȘ, M.. *Includerea markerilor antioxidanți ai stresului oxidativ în algoritmul prevenirii nașterii premature în sarcină la femei peste 35 de ani*. Certificat de inovator nr. 6080 din 09.06.2023. Actul de implementare a inovației nr. 110.

ADNOTARE
Dobrovolskaia Aliona
PARTICULARITĂȚILE EVOLUȚIEI ȘI DE CONDUITĂ A SARCINII OBTINUTE
PRIN METODA FERTILIZĂRII *IN VITRO* LA FEMEILE PESTE 35 DE ANI

Teza de doctor în științe medicale, Chișinău, 2024

Structura tezei: Introducere, cinci capitole, concluzii generale și recomandări; bibliografie – 163 surse. În total, teza conține 187 pagini text de bază, 29 tabele, 18 figuri, 10 anexe. Rezultatele obținute sunt publicate în 10 lucrări științifice.

Cuvinte – cheie: vârsta reproductivă, infertilitate, fertilizare în vitro, FIV, diagnostic antenatal, citokine, interleukine, markeri ai stresului oxidativ.

Domeniul de studiu: Medicină.

Scopul cercetării: Identificarea particularităților clinice în evoluția sarcinilor concepute prin metoda FIV la gestantele cu vârstă peste 35 de ani, corelate cu valorile biomarkerilor imuni și ai stresului oxidativ determinați în al II-lea trimestru de sarcină din sângele matern și lichidul amniotic.

Obiectivele cercetării: Analiza evoluției clinice a sarcinilor concepute prin metoda FIV la gravidele cu vârsta de peste 35 de ani; Interpretarea nivelului citokinelor determinate în sângele matern și lichidul amniotic, în trimestrul al doilea de sarcină; Analiza biomarkerilor stresului oxidativ prelevați din serul sanguin și lichidul amniotic, în trimestrul al doilea, la gestantele cu vârsta de peste 35 de ani, sarcina concepută prin metoda FIV; Particularități ale evoluției sarcinilor concepute prin metoda FIV și corelarea lor cu variațiile biomarkerilor determinați în trimestrul al doilea de sarcină.

Noutatea și originalitatea științifică: Rolul prognostic al statusului imun și al stresului oxidativ în mecanismele patogenetice de dezvoltare a complicațiilor în sarcinile concepute prin metoda FIV la femeile cu vârsta de peste 35 de ani, anticipând evoluția clinică.

Principalele rezultate științifice obținute: Stările hipertensive induse de sarcină, preeclampsia și nașterile premature la femeile cu vârsta de peste 35 de ani, sarcină concepută prin metoda FIV, sunt corelate cu dezechilibrul statusului imun și augmentarea stresului oxidativ în serul sanguin și lichidul amniotic, din al doilea trimestru de sarcină.

Semnificația teoretică: Cercetarea dată completează cunoștințele clinice privind particularitățile evoluției sarcinii concepute prin metoda FIV la gestantele cu vârsta de peste 35 de ani.

Valoarea aplicativă a lucrării: Lărgirea spectrului diagnosticului antenatal precoce prin determinarea markerilor imuni, inclusiv ai citokinelor și stresului oxidativ, ca factori de prognostic pentru riscul declanșării complicațiilor în sarcinile concepute prin fertilizare în vitro (FIV), la femeile cu vârsta de peste 35 de ani.

Implementarea rezultatelor științifice: Au fost înregistrate două inovații implemente practic în cadrul IMSP IMC și USMF Nicolae Testemițanu. Elaborat și recomandat un Algoritm de triaj a gestantelor, cu vârsta de peste 35 de ani și metoda de concepere – FIV.

Rezultatele cercetării au fost publicate în mass-media de specialitate, expuse în prezentări la congrese și forumuri științifice.

ANNOTATION

Dobrovolskaia Aliona

CHARACTERISTICS OF THE EVOLUTION AND CONDUCT OF PREGNANCY OBTAINED THROUGH THE IN VITRO FERTILIZATION METHOD IN WOMEN OVER 35 YEARS OLD

Doctoral thesis in medical sciences, Chişinău, 2024

Thesis structure: Introduction, five chapters, general conclusions and recommendations; bibliography – 163 sources. In total, the thesis contains 187 pages of basic text, 29 tables, 18 figures, 10 annexes. The obtained results are published in 10 scientific works.

Key words: reproductive age, infertility, in vitro fertilization, IVF, antenatal diagnosis, cytokines, interleukins, markers of oxidative stress.

Field of study: Medicine.

The purpose of research: Identifying the clinical peculiarities in the evolution of pregnancies conceived by the IVF method in pregnant women over 35 years old, correlated with the values of immune biomarkers and oxidative stress determined in the II trimester of pregnancy from maternal blood and amniotic fluid.

Research objectives: Analysis of the clinical evolution of pregnancies conceived by the IVF method in pregnant women over 35 years old; Interpretation of the level of cytokines determined in maternal blood and amniotic fluid, in the second trimester of pregnancy; Analysis of oxidative stress biomarkers taken from blood serum and amniotic fluid, in the second trimester, in pregnant women over 35 years of age, pregnancy conceived by the IVF method; Peculiarities of the evolution of pregnancies conceived by the IVF method and their correlation with the variations of biomarkers determined in the second trimester of pregnancy.

Scientific novelty and originality: The prognostic role of immune status and oxidative stress in the pathogenetic mechanisms of the development of complications in pregnancies conceived by the IVF method in women over 35 years of age, anticipating the clinical evolution.

The main scientific results obtained: Hypertensive states induced by pregnancy, preeclampsia and premature births in women over 35 years of age, pregnancy conceived by the IVF method, are correlated with the imbalance of the immune status and the augmentation of oxidative stress in the blood serum and amniotic fluid, from second trimester of pregnancy.

Theoretical significance: The given research complements the clinical knowledge regarding the particularities of the evolution of the pregnancy conceived by the IVF method in pregnant women over 35 years old.

Applicative value of the work: Broadening the spectrum of early antenatal diagnosis by determining immune markers, including cytokines and oxidative stress, as prognostic factors for the risk of complications in pregnancies conceived by in vitro fertilization (IVF), in women over 35 years of age.

Implementation of scientific results: Two practically implemented innovations were registered within IMSP IMC and SUMP „Nicolae Testemiţanu”. Developed and recommended a Triage Algorithm for pregnant women, over 35 years old and the method of conception - IVF.

The results of the research were published in specialized mass media, exhibited in presentations at congresses and scientific forums.

АННОТАЦИЯ

Добровольская Алена

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ И ВЕДЕНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ, ЗАЧАТОЙ МЕТОДОМ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ У ЖЕНЩИН СТАРШЕ 35 ЛЕТ

Диссертация на соискание учёной степени кандидата медицинских наук, Кишинёу, 2024

Структура диссертации: Введение, текст диссертации: пять глав, заключение и выводы, рекомендации; библиография – 163 источника. Всего диссертация содержит 187 страниц основного текста, 29 таблиц, 18 фигур, 10 приложений. Полученные результаты опубликованы в 10 научных статьях.

Ключевые слова: репродуктивный возраст, бесплодие, экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО), антенатальная диагностика, цитокины и маркеры оксиданты и антиоксиданты, окислительный стресс.

Область обучения: Медицина.

Цель исследования: Выявление особенностей беременности у женщин старше 35 лет зачатых методом ЭКО и корреляция с вариациями биомаркеров иммунного профиля и оксидативного стресса определенных во II-ом триместре в крови и околоплодных водах.

Задачи исследования: Анализ клинической эволюции беременности, у женщин старше 35 лет, зачатых методом ЭКО; Интерпретация уровня цитокинов, определяемых в крови матери и околоплодных водах, во втором триместре беременности; Оценка биомаркеров окислительного стресса в сыворотке крови и околоплодных водах, определённых во втором триместре; Осложнения беременностей зачатых методом ЭКО и их корреляция с вариациями определенных биомаркеров.

Новизна и научная оригинальность работы: Исследование демонстрирует роль иммунного статуса и окислительного стресса в патогенетических механизмах развития осложнений, у женщин старше 35 лет беременность методом ЭКО.

Полученные научные результаты: Доказана взаимосвязь вариации иммунного статуса, цитокинов и маркеров оксидативного стресса определённых в сыворотке крови и околоплодных водах во втором триместре у беременных старше 35 лет, зачатых методом – ЭКО, с осложнениями клинически проявившимися в третьем триместре. енные роды.

Теоретическая значимость: Данное исследование дополняет сведения клинического течения беременности, зачатой методом ЭКО, у женщин старше 35 лет.

Прикладная ценность статьи: Расширение спектра антенатальной диагностики за счет привлечения в диагностику иммунных маркеров, цитокинов и антиоксидантов определенных из материнской крови и околоплодных вод.

Внедрение научных результатов: По результатам исследований зарегистрированы две инновации, и четыре протокола внедрения в условиях Института Матери и Ребёнка и ГУМФ „Николае Тестемицану”и разработан алгоритм ведения беременных старше 35 лет с зачатием ЭКО.

Результаты исследований опубликованы в научных статьях, озвучены в докладах на конгрессах и научных форумах.

Foaia privind datele de tipar

DOBROVOLSKAIA ALIONA

**PARTICULARITĂȚILE EVOLUȚIEI ȘI DE CONDUITĂ
A SARCINII OBȚINUTE PRIN METODA
FERTILIZĂRII IN VITRO LA FEMEILE PESTE 35 DE ANI**

321.15 - OBSTETRICĂ ȘI GINECOLOGIE

Rezumatul tezei de doctor în științe medicale

Aprobat spre tipar: _____ Formatul hârtiei 60x84 1/16 Hârtie ofset
Tipar ofset. Tiraj 70 ex.
Coli de autor: 2.0 Comanda nr. 1111

Tipografia ” REAL PRINT” SRL
MD-2015, Chișinău, str. Dimo, 29/2
Tel. (+373) 693 15 000