



Școala doctorală de Medicină

Domeniul de doctorat: MEDICINĂ

TEZĂ DE DOCTORAT

IMPACTUL FACTORILOR PRO INFLAMATORI ÎN PATOLOGIA OBSTETRICALĂ

REZUMAT

Doctorand:
CONSTANTIN CONDAC

Conducător de doctorat:
Prof. Univ. dr. **VICTORIA BIRLUTIU**

CUPRINS

LISTĂ DE ABREVIERI	3
PARTE GENERALĂ	7
CAPITOLUL1 - STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	7
1.1 CORIOAMNIOTITA SI INFECȚIILE VAGINALE - ETIOLOGIE	7
1.1.1 INFECȚIA CU STREPTOCOC BETA HEMOLITIC DE GRUP B	9
1.1.2 INFECȚIA CU ESCHERICHIA COLI	10
1.1.3 INFECȚIA CU ENTEROCOCCUS SI ENTEROBACTER	10
1.1.4 INFECȚIA CU UREAPLASMA UREALYTICUM	10
1.1.5 INFECȚIA VAGINALA CU CANDIDA	10
1.2 INFECȚIA CU SARS-CoV 2 ȘI SARCINA	11
1.2.1 PATOLOGIA PLACENTARA IN CONTEXTUL INFECȚIEI CU SARS-CoV-2	14
1.2.2 HISTOPATOLOGIA MOLECULARA PLACENTARA DUPA INFECȚIA CU SARS-CoV-2 IN SARCINA	15
1.3 NAȘTEREA PREMATURA IN CONTEXTUL PATOLOGIEI INFECȚIOASE	18
CAPITOLUL 2	22
MARKERII IMUNOHISTOCHIMICI	22
2.1 OSTEOPONTINA	22
2.1.1 EXPRESIA CELULARA SPECIFICA A OSTEOPONTINEI LA MODELE ANIMALE	23
2.2 FOSFOHISTIONA 3	24
2.3 RECEPTORUL DE VITAMINA D	25
2.3.1 EFECTE IMUNOMODULATOARE ALE VITAMINEI D IN SARCINA	26
2.4 CD44	28
2.5 CICLOOXIGENAZA – 2 (COX 2)	29
PARTE PERSONALĂ	31
CAPITOLUL 3	31
STUDIUL EXPRESIEI PLACENTARE A BIOMARKERILOR CELULARI LA FEMEILE INSARCINATE IN CONTEXTUL PANDEMIEI DE COVID-19 (NEGATIVE, VACCINATE ȘI POZITIVE)	31
3.1 OBIECTIVELE CERCETARII	34
3.2 MATERIAL ȘI METODA	35
3.3 REZULTATE	37
3.4 DISCUȚII.....	48
3.5 CONCLUZII.....	50
CAPITOLUL 4	51
INTERACȚIUNEA RECEPTORILOR DE VITAMINA D LA FEMEILE INSARCINATE IN CONTEXTUL PANDEMIEI DE COVID-19 (NEGATIVE, VACCINATE ȘI POZITIVE)	51
4.1 OBIECTIVELE CERCETARII	60

4.2 MATERIAL ȘI METODA	60
4.3 REZULTATE	62
4.4 DISCUȚII.....	72
4.5 CONCLUZII.....	74
CAPITOLUL 5	75
EXPRESIA MOLECULARA PLACENTARA IN DIFERITE INFECTII VAGINALE CU POTENTIAL PATOGEN.....	75
5.1 OBIECTIVELE CERCETARII	77
5.2 MATERIAL ȘI METODA	77
5.3 REZULTATE	79
5.4 DISCUȚII.....	96
5.5 CONCLUZII.....	99
CONCLUZII GENERALE	100
REFERINȚE	102

LISTĂ DE ABREVIERI

ACE2 = enzimă de conversie a angiotensinei 2
AIP = patologia inflamatorie acută
AND = acid dezoxiribonucleic
ARN = acid ribonucleic
BPD = displazia bronhopulmonară
BTS = boli cu transmitere sexuală
CD44 = clusterului de diferențiere 44
CIP = patologia inflamatorie cronică
COVID-19 = coronavirus 2019
COX-2 = ciclooxygenază-2
CVS = viloziități corionice
E. Coli = *Escherichia coli*
FIGO = Federația Internațională de Ginecologie și Obstetrică
FVM = malperfuzie vasculară fetală
GBS = Streptococul de grup B
H&E= Hematoxilină și eozină
H₂O₂ = Peroxid de hidrogen
hCG = gonadotropină corionică umană
IAI = infecția intra-amniotică
IFITM1-3 = proteina transmembranară indusă de interferon 3
IHC = imunohistochimie
IMC = indicele de masă corporală
LBW = greutate mică la naștere
M. hominis = *Mycoplasma hominis*
MERS = sindromul respirator din Orientul Mijlociu
MERS-CoV = sindromul respirator coronavirus din Orientul Mijlociu
MVM = malperfuzie vasculară maternă
NICU = unitatea de terapie intensivă neonatală
NP = naștere prematură
OPN = Osteopontină
PCR = reacție de polimerizare în lanț
PHH3 = Fosfohistona 3
PROM/PPROM = ruperea prematură a membranelor fetale
PTB = nașterea prematură
RT-PCR = reacție de polimerizare în lanț prin revers transcriptază
SARS-CoV-2 = sindromul respirator acut sever coronavirus 2
SGA = fetești mici pentru vârsta gestațională (*small for gestational age* (eng.))
SNC = sistemul nervos central
SYN = sincițiotrofoblast multinucleat
TMPRSS2 = serin proteaza-2 transmembranară
TNF = factorul de necroză tumorală
U. urealyticum = *Ureaplasma urealyticum*
VDR = receptorul de vitamina D

Capitolul 1

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Principala cauză de mortalitate infantilă în țările dezvoltate dar și în curs de dezvoltare este reprezentată de nașterea prematură. Anual se nasc 15 milioane de nou-născuți prematur iar ascensionarea bacteriilor de la nivel vaginal în cavitatea uterină, este responsabilă de marea majoritate a acestor nașteri. Chiar și microorganismele care determină apariția unei disbioze (de tipul *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Gardnerella vaginalis*), cu virulență scăzută, pot determina naștere prematură prin stimularea producerii de citokine proinflamatorii care pot produce ruptura prematură a membranelor și contracții uterine. Ruptura prematură de membrane, înainte de 37 de săptămâni, apare în aproximativ 30% din nașterile spontane premature. Cea mai frecventă cale de infecție intrauterină sunt bacteriile ascendente din tractul genital inferior. Acest lucru se întâmplă cel mai frecvent în prezența ruperii membranelor, dar este posibil și cu membranele intacte. Flora microbiană reprezentativă și cel mai frecvent întâlnită în infecțiile tractului genital feminin este compusă din: Streptococul de grup B, *Escherichia coli* (*E. Coli*), *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter spp.*, *Candida spp.*, *Ureaplasma urealyticum* (*U. urealyticum*), *Mycoplasma hominis* (*M. hominis*), *Chlamydia trachomatis* și vaginoza bacteriană; microorganisme prezente într-o floră vaginală săracă sau absentă în lactobacilli, respectiv în infecție cu bacteria Gram-negative (Brown *et al.*, 2019). Infecția intrauterină poate fi polimicrobiană și, în majoritatea cazurilor, este cauzată de o combinație de organisme anaerobe și aerobe. Agenții patogeni care sunt cel mai frecvent izolați în lichidul amniotic al pacientelor cu corioamniotită sunt cei care se găsesc în flora vaginală, inclusiv *Gardnerella vaginalis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Bacteroides bivius*, streptococi de grup A, B și D, Peptococcus, Peptostreptococcus și *Escherichia coli*. Alte căi de infecție includ infecția hematogenă (transmisă prin sânge) sau transplacentară, infecția retrogradă din pelvis și infecția transuterină cauzată de procedurile medicale, cum ar fi amniocenteza și prelevarea de vilozități corionice (CVS), dar toate acestea sunt relativ rare (Brown *et al.*, 2019; Romero *et al.*, 2007; Vogel *et al.*, 2006).

Literatura de specialitate punctează rolul pivotant al microflorei vaginale normale și valențele negative ale vaginozei bacteriene în sarcină. Studiile susțin că prezența infecției cu *Candida* și vaginoza bacteriană în timpul sarcinii cresc riscul de avort și naștere prematură. De asemenea, a fost evidențiat de către literatura de specialitate și faptul că vaginita pe durata sarcinii poate determina complicații importante precum avortul spontan, nașterea prematură, ruptura prematură de membrane, corioamniotita, greutate mică la naștere și endometrita (Brown *et al.*, 2019; Peaceman *et al.*, 2014).

Impactul sindromului respirator acut sever coronavirus 2 (SARS-CoV-2) și al bolii asociate coronavirus 2019 (COVID-19) asupra femeilor însărcinate și a nou-născuților este de interes deosebit pentru obstetricieni, pediatri și pacienți (Engjom *et al.*, 2024). Coronavirusurile sunt virusuri ARN monocatenare, încapsulate. Majoritatea coronavirusurilor care circulă în mod obișnuit cauzează infecții respiratorii superioare ușoare, cu boli severe ocazionale la indivizii imunocompromiși. Coronavirusurile noi anterioare care au cauzat infecții umane semnificative includ sindromul respirator acut sever (SARS, cauzat de coronavirusul SARS-CoV) între 2002 și 2004 și sindromul respirator din Orientul Mijlociu (MERS, cauzat de coronavirusul MERS-CoV) din 2012 până în prezent (Goyal *et al.*, 2022). Se estimează că epidemia de SARS (care s-a încheiat oficial în 2023, deși cazuri sporadice au fost raportate până în 2024) a implicat aproximativ 100 de femei gravide la nivel mondial. Mai multe serii de cazuri au demonstrat că infecția cu SARS în timpul sarcinii a fost asociată cu infecții materne severe, risc crescut de deces matern și avort spontan.

Lucrarea de doctorat intitulată „Impactul factorilor proinflamatori în patologia obstetricală” a avut ca scop investigarea rolului markerilor proinflamatori placentari în evoluția sarcinii și în apariția complicațiilor obstetricale, în contextul infecției cu SARS-CoV-2 și al vaccinării anti-COVID-19. Cercetarea a urmărit să evidențieze modul în care inflamația placentară influențează dezvoltarea fetală și adaptarea imunologică materno-fetală.

Obiectivele principale ale studiului au fost:

- Studiarea factorilor pro inflamatori și urmările acestora la femeile însărcinate
- Evaluarea expresiei placentare a biomarkerilor celulari la femeile însărcinate în contextul pandemiei de COVID-19

- Examinarea variației receptorului de vitamina D la femeile însărcinate în contextul pandemiei de COVID-19
- Evaluarea expresiei placentare a biomarkerilor celulari și variațiile receptorului de vitamina D la femeile însărcinate în contextul pandemiei de COVID-19

Infecțiile vaginale reprezintă o problemă comună și frecventă în practica medicală și pot implica diverse microorganisme (bacterii și fungi). Printre microorganismele implicate în aceste infecții se numără Streptococul, *Escherichia coli* (*E. coli*), Enterococcus, Enterobacter, *Gardnerella vaginalis*, Ureaplasma și Candida. Infecțiile genitale dobândite pe parcursul sarcinii pot pune în pericol atât buna dezvoltare a fătului cât și sănătatea mamei, cum ar fi corioamniotita, nașterea prematură și ruptura prematură a membranelor. Acestea survin pe un teren imunologic compromis, cauzat de sarcină, imunitatea mamei scăzând pentru a putea oferi toate condițiile optime de dezvoltare ale fătului (Brown *et al.*, 2019; Dautt-Leyva *et al.*, 2018; Gonçalves *et al.*, 2022).

Patologia placentară în contextul infecției cu SARS-CoV-2 este un domeniu activ de cercetare, iar înțelegerea noastră asupra acesteia este în continuă evoluție. Cu toate acestea, s-au raportat anumite constatări în cazurile de patologie placentară asociată cu SARS-CoV-2 (Prochaska *et al.*, 2020). În unele cazuri, patologia placentară a evidențiat hipoperfuzia vasculară maternă, caracterizată de anomalii în vasele de sânge matern ale placentei. Acestea pot include modificări precum fluxul sanguin anormal, tromboza și infarctul la nivel placentar. De asemenea, au fost raportate cazuri în care există dovezi ale prezenței virale sau materialului genetic al SARS-CoV-2 în țesutul placentar însuși, sugerând posibilitatea unei implicări virale directe (Prochaska *et al.*, 2020). Este important de menționat că aceste constatări nu sunt universale și pot varia de la un caz la altul. La momentul actual, încă nu se cunoaște în mod cert dacă infecția cu SARS-CoV-2 poate fi transmisă vertical. Rapoartele de caz indică posibilitatea infectării placentare și neonatale, și asociază infecția maternă cu modificări placentare.

Cercetarea continuă și dezvoltarea de strategii de diagnostic precoce precum și managementul eficient al corioamniotitei sunt esențiale pentru reducerea riscului de naștere prematură și a complicațiilor asociate. O abordare multidisciplinară, care implică medici obstetricieni, neonatologi, infecționiști și microbiologi este necesară pentru a îmbunătăți rezultatele materno-fetale în cazurile de corioamniotită și naștere prematură.

La nivel global, pandemia de COVID-19, a avut un efect profund asupra femeilor gravide și asupra nașterilor, lăsând în cele din urmă multe aspecte ale acestei patologii încă nedesluite și pentru care câțiva ani mai târziu necesită încă un efort considerabil pentru înțelegerea pe deplin a unor aspecte.

Informații semnificative privind sănătatea a mamei, dar și a fătului pot fi oferite de către examinarea histopatologică a țesutului placentar. Infecțiile virale în perioada sarcinii au fost asociate cu constatări placentare specifice precum: vilită limfoplasmocitară cu mărirea asociată a vilozităților și depunerea de hemosiderină intravilozitară în contextul infecției materne cu citomegalovirus, dar și intervillilități în contextul infecției cu virusul Zika și virusul Dengue.

Nașterea prematură (PTB) reprezintă cea mai mare provocare în obstetrică în era modernă. Incidența nașterii premature rămâne stabilă în mai multe regiuni ale lumii și fluctuează între 5% și 12%, dar în unele țări tinde să crească, cum ar fi în țările subdezvoltate sau în America Latină, unde sărăcia are un impact negativ asupra îngrijirii medicale, ajungând în unele cazuri la prevalența mai mare a infecțiilor și utilizarea incorectă a antibioticelor în acest grup de pacienți (WHO, 2012). Nașterea prematură a fost identificată ca fiind principala cauză de mortalitate infantilă, atât în țările dezvoltate dar și în curs de dezvoltare. Flora microbiană este cea mai frecventă întâlnită în infecțiile tractului genital feminin este reprezentată de: *Streptococul de grup B*, *Escherichia coli* (*E. Coli*), *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter spp.*, *Candida spp.*, *Ureaplasma urealyticum* (*U. urealyticum*), *Mycoplasma hominis* (*M. hominis*), *Chlamydia trachomatis* și vaginoza bacteriană; microorganisme prezente într-o floră vaginală săracă sau absentă în lactobacilli, respectiv în infecție cu bacteria Gram-negativă. Literatura de specialitate susține că prevalența microorganismelor în tractul genital al femeilor într-o populație este modificată în funcție de: vârstă, rasă, statutul socio-economic, utilizarea contraceptivelor, menstruația și sarcina. Asocierea dintre corioamniotită și nașterea prematură este bine documentată în literatura medicală. Inflamația persistentă și infecția din corioamniotită pot duce la modificări structurale și funcționale în membranele corioamniotice, inclusiv subțierea și slăbirea acestora. Managementul adecvat al corioamniotitei este esențial pentru reducerea morbidității și mortalității materno-fetale. Diagnosticul precoce și tratamentul prompt al corioamniotitei pot ajuta la prevenirea complicațiilor severe contribuind astfel la reducerea riscului de naștere prematură și a complicațiilor asociate.

Capitolul 2

MARKERII IMUNOHISTOCHIMICI

Osteopontina (*OPN*) este o glicoproteină extracelulară cu multiple roluri în procesele biologice, inclusiv inflamație, reglarea matricei extracelulare și interacțiunea cu celulele imune. Această proteină este exprimată în diverse țesuturi și joacă un rol important în dezvoltarea și funcționarea placentară. Expresia *OPN* la nivelul placentei poate fi afectată în cazul corioamniotitei, inflamația membranelor fetale și a lichidului amniotic. Studiile anterioare au evidențiat că *OPN* poate fi implicată în procesele inflamatorii la nivel placentar și poate juca un rol în răspunsul imun al organismului la infecție.

Fosfohistona 3 (*PHH3*) este un marker specific pentru mitoză, fiind exprimat în fazele finale ale mitozei și în timpul diviziunii celulare active. Prin identificarea celulelor pozitive pentru *PHH3* la nivelul placentei, se poate evalua activitatea mitotică și nivelul de proliferare celulară. *PHH3* poate fi folosit pentru a determina nivelul de dezvoltare și maturitate al placentei conform studiului lui Bermick *et al.* (2019) (Bermick *et al.*, 2019).

Evaluarea *PHH3* placentară poate oferi informații despre activitatea mitotică a celulelor trofoblastice, care sunt responsabile de formarea și remodelarea vaselor de sânge de la nivelul placentei. Un nivel crescut de *PHH3* poate indica o proliferare celulară anormală sau o dezvoltare placentară deficitară (Hord *et al.*, 2020).

Utilizarea biomarkerului *PHH3* la nivel tisular la pacientele cu corioamniotită poate oferi informații suplimentare despre gradul de inflamație, stres celular și activitatea celulară în placenta afectată. Cu toate acestea, este important de menționat că interpretarea rezultatelor trebuie făcută în contextul clinic complet, luând în considerare și alte investigații și semne clinice asociate corioamniotitei.

Receptorul de vitamina D (*VDR*) este implicat în reglarea funcției imune, iar expresia sa la nivelul placentei poate fi afectată în cazul corioamniotitei. *VDR* este un receptor nuclear care se leagă de vitamina D și acționează ca un factor de transcripție, reglând expresia genelor implicate în diverse funcții biologice.

Studiile au arătat că expresia *VDR* la nivelul placentei poate fi modificată în cazul corioamniotitei. Vitamina D și receptorul său, *VDR*, sunt implicate în reglarea imunității înăscute și adaptative, inclusiv în funcția de barieră a epitelului placentar și în reglarea inflamației. În cazul corioamniotitei, care este o afecțiune inflamatorie, s-a observat o scădere a expresiei *VDR* în placenta afectată (Cookson *et al.*, 2018; Guevara *et al.*, 2020; Knabl *et al.*, 2017).

Scăderea expresiei *VDR* poate avea consecințe negative asupra funcției imune și inflamației la nivel placentar, în corioamniotită. De exemplu, scăderea nivelului de *VDR* poate duce la activarea excesivă a sistemului imunitar și la eliberarea crescută de citokine proinflamatorii, care pot agrava inflamația și pot afecta schimburile materno-fetale de la nivel placentar. Este important de menționat că interpretarea rezultatelor trebuie făcută luând în considerare și alte aspecte clinice și investigații asociate infecțiilor vaginale, respectiv corioamniotitei.

Rolul vitaminei D în dezvoltarea creierului fătului a fost subliniat după identificarea receptorilor pentru vitamina D (*VDR*) în creierul fetal. Vitamina D prezintă capacitatea de traversare a barierei hematoencefalice, prin legarea de *VDR*, stimulând astfel o gamă largă de răspunsuri (Kesby *et al.*, 2011).

CD44 este o moleculă de adeziune celulară și un receptor pentru hialuronan, o componentă importantă a matricei extracelulare. *CD44* joacă un rol important în procesele inflamatorii și de regenerare tisulară. Această moleculă este exprimată în diverse țesuturi și joacă un rol crucial în procesele de dezvoltare, inflamație și regenerare.

Expresia *CD44* la nivelul placentei poate fi afectată în cazul inflamației membranelor fetale și a lichidului amniotic. *CD44* este exprimat în diferite tipuri de celule ale placentei, inclusiv trofoblastul și celulele stromale. Această moleculă are roluri multiple, inclusiv aderență celulară, migrare celulară, reglarea inflamației și interacțiunea cu matricea extracelulară. *CD44* poate participa, de asemenea, la procesele de implantare, vascularizare și dezvoltare cu funcționare a placentei (Marzioni *et al.*, 2009).

Expresia *CD44* la nivelul placentei poate fi crescută în cazul corioamniotitei, reflectând activarea sistemului imunitar și interacțiunea celulelor inflamatorii cu matricea extracelulară. Modificările în expresia *CD44* pot avea consecințe asupra funcției placentare și pot contribui la severitatea inflamației în corioamniotită.

COX-2 (ciclooxigenaza-2) este o enzimă implicată în producția de prostaglandine, mediatori importanți ai inflamației și reglării proceselor fiziologice în organism.

Prostaglandinele produse de COX-2 pot contribui la amplificarea inflamației și la declanșarea contracțiilor uterine, ceea ce poate avea consecințe asupra evoluției sarcinii și a nașterii cu apariția complicațiilor fetale și neonatale date de nașterea prematură asociată cu infecția. În placentă, COX-2 este exprimat în diverse tipuri de celule și joacă un rol crucial în dezvoltarea și funcționarea normală a acestui organ.

. De asemenea, COX-2 poate influența funcția de barieră a placentei și poate juca un rol în interacțiunea materno-fetală. Pe de altă parte, corioamniotita poate afecta expresia COX-2 placentar și poate amplifica inflamația în mediul materno-fetal, având consecințe negative asupra sarcinii (Guzeloglu-Kayisli *et al.*, 2015).

Analiza expresiei imunohistochimice a unor markeri specifici placentari permite o înțelegere aprofundată a mecanismelor inflamatorii și de adaptare tisulară în cursul sarcinii. Markerii CD44, osteopontina (OPN), ciclooxigenaza-2 (COX-2) și receptorul pentru vitamina D (VDR) reprezintă elemente-cheie în reglarea interacțiunilor celulare, a proceselor de diferențiere trofoblastică și a răspunsului imun local. CD44, o glicoproteină transmembranară implicată în adeziunea celulară și migrația trofoblastului, joacă un rol esențial în implantare și remodelarea vasculară. OPN, o proteină matricială multifuncțională, mediază interacțiunile celulă-matrice și participă la controlul echilibrului pro- și antiinflamator. COX-2, o enzimă indusă în condiții inflamatorii, contribuie la sinteza prostaglandinelor, esențiale pentru angiogeneză și menținerea homeostaziei placentare. VDR, receptor nuclear al vitaminei D, exercită un efect imunomodulator complex, influențând expresia genică implicată în răspunsul inflamator și toleranța imună materno-fetală. Evaluarea acestor biomarkeri oferă perspective importante asupra modului în care procesele inflamatorii și statusul imunologic matern pot influența dezvoltarea și funcția placentei în condiții fiziologice și patologice.

Capitolul 3

STUDIUL EXPRESIEI PLACENTARE A BIOMARKERILOR CELULARI LA FEMEILE ÎNSĂRCINATE ÎN CONTEXTUL PANDEMIEI DE COVID-19 (NEGATIVE, VACCINATE ȘI POZITIVE)

În vederea înțelegerii mecanismului de transmisie de la mamă la făt al infecțiilor emergente anterioare, s-a recurs la examenul anatomo-patologic al placentelor, ceea ce s-a dovedit a fi o tehnică extrem de informativă (Schwartz *et al.*, 2021).

În toate țesuturile umane, macrofagele mediază homeostazia, dezvoltarea, repararea și imunitatea țesuturilor. În timpul dezvoltării embrionare, primele macrofage care apar sunt derivate printr-un proces numit hematopoieză primitivă, numite celulele Hofbauer, care apar în principal în stroma placentei umane din primul trimestru, după 18 zile de la concepție, similare macrofagelor din sacul vitelin. Placenta reprezintă o barieră crucială care protejează fătul de infecțiile verticale. Nu este însă pe deplin elucidat dacă celulele Hofbauer au capacitatea de a detecta și de a răspunde la stimuli microbieni, prin intermediul receptorilor Toll-like și de a face distincția între diferite modele moleculare asociate agenților patogeni derivate dintr-o serie de microbi, demonstrând astfel că acestea nu sunt primitive din punct de vedere funcțional. Chiar dacă funcția lor este slab descrisă, există o serie de factori pe care îi secretă, inclusiv osteopontina și metaloproteinaza-9, cu un impact asupra angiogenezei și remodelării placentare, care pot ajuta la repararea țesutului placentar (Thomas *et al.*, 2021).

Studiul expresiei CD44, OPN și COX-2 în țesutul placentar ar putea oferi informații valoroase cu privire la efectele infecției și vaccinării cu COVID în timpul sarcinii. Fiecare marker joacă un rol distinct în procesele celulare și răspunsurile imune, ceea ce evidențiază importanța pentru înțelegerea patologiei placentare în diferite condiții. Scopul acestui studiu a fost de a evalua expresia CD44, OPN și COX-2 în trei grupuri de femei gravide (sănătoase și nevaccinate, COVID-pozitive și nevaccinate și femei gravide COVID-vaccinate și COVID-negative) pentru a evalua posibilele căi fiziopatologice pentru alterările arhitecturii placentare consecutive răspunsurilor inflamatorii, care pot fi influențate de infecțiile virale sau de modularea imunitară indusă de vaccin. Pornind de la cunoașterea funcției normale a markerilor anterior discutați (CD44, OPN și COX-2), în sarcina și lehuizia fiziologică, putem anticipa și interveni în timp util în cazul apariției unui dezechilibru în cadrul proceselor fiziologice. Astfel, va fi posibilă prevenirea complicațiilor majore, cu reducerea semnificativă a mortalității și morbidității materno-fetale.

Acest studiu este considerat a fi primul din România, în care se încearcă studierea biomarkerilor de la nivel tisular la paciente gravide, astfel putând fi considerat un pionier care poate pune bazele unor ghiduri

prin care clinicienii să poată preveni și de ce nu, identifica cât mai precoce cauzele care pot perpetua buna evoluție a unei sarcini.

Cercetările derulate au avut drept finalitate îmbogățirea cunoștințelor referitoare la rolul distinct al fiecărui marker în ceea ce privește evoluția favorabilă a proceselor celulare și răspunsurilor imune, ceea ce evidențiază importanța pentru înțelegerea patologiei placentare. În cadrul acestui studiu a fost analizată implicarea celor trei markeri în declanșarea unor evenimente în rândul gravidelor, care pot determina avort spontan, ruptura prematură a membranelor, naștere prematură sau corioamniotită.

Studiul a fost derulat în perioada ianuarie 2021 – ianuarie 2023. Probele de țesut au fost colectate de la femei care au născut la termen, cu vârsta peste 18 ani, apte să semneze consimțământul, fără complicații, boli asociate sau tratament cronic. Femeile gravide participante la studiu au fost împărțite în trei grupuri: femei COVID-pozitive și nevaccinate, femei COVID-negative și vaccinate și femei COVID-negative și nevaccinate. Grupul COVID-pozitiv și nevaccinat a inclus femei asimptomatice, cu boala detectată oricând în timpul sarcinii, dar cu cel puțin 14 zile înainte de naștere. Diagnosticul de infecție SARS-CoV-2 a fost stabilit cu ajutorul testului de reacție de polimerizare în lanț (PCR). Al doilea grup a inclus femei vaccinate cu vaccin anti-SARS-CoV-2 ARN-mesager (Pfizer), cu prima sau a doua doză administrată cu cel puțin 14 zile înainte de momentul nașterii, care nu au fost niciodată testate pozitiv pentru COVID în timpul pandemiei și cu un test rapid COVID negativ, repetat la fiecare trei săptămâni în timpul sarcinii. Grupul de control a inclus femei COVID-negative și nevaccinate care au născut la termen, fără complicații sau patologii asociate (toate femeile incluse în al treilea grup nu au fost niciodată testate pozitive în timpul pandemiei până la includerea în studiu și au avut teste rapide COVID negative la fiecare trei săptămâni în timpul sarcinii).

Prin imunohistochimie au fost colectate patru probe de țesut din fiecare placenta, câte una reprezentativă pentru cele patru cadrane. Secțiunile au fost colorate cu hematoxilina – eozină (H&E) și examinate anatomopatologic. Colorația IHC a fost efectuată pe țesuturi fixate în formol, incluse în parafină, utilizând anticorpi monoclonali împotriva clusterului de diferențiere 44 (CD44), a osteopontinei (OPN) și ciclooxygenazei-2 (COX-2). Toate probele placentare au fost examinate pentru detectarea prezenței CD44, OPN și anti-COX-2. Celulele pozitive (considerate a fi cele de culoare maro sau maro-gălbui la nivelul nucleului), din compartimentele epiteliale și stromale au fost considerate CD44, OPN și anti-COX-2 pozitive, indiferent de intensitatea colorării sau de numărul de celule pozitive. La examinarea secțiunilor H&E au fost observate modificări patologice. La pacientele COVID-pozitive și vaccinate, au fost observate semne de inflamație, cum ar fi vilită sau intervilită, depunere crescută de fibrină și, posibilă prezență de microtrombi. Aceste modificări au indicat un răspuns imun sau o implicare vasculară asociată cu COVID. În schimb, la pacientele non-COVID și nevaccinate, placenta a prezentat caracteristici histologice tipice, fără modificări inflamatorii sau vasculare specifice. În mod surprinzător, analiza datelor a identificat o expresie CD44 mai intensă pe suprafața stromei țesutului conjunctiv placentar în țesutul placentar sănătos, la pacientele nevaccinate iar în țesuturile placentare de la femeile gravide COVID-pozitive, s-a observat o scădere subtilă a expresiei CD44. Astfel, din punct de vedere comparativ, expresia CD44 a fost cea mai scăzută în țesuturile placentare vaccinate, la pacientele cu COVID. În plus, analiza a demonstrat o creștere a expresiei OPN în țesuturile placentare ale femeilor vaccinate cu COVID, evidentă atât în compartimentul epitelial, cât și în cel stromal. Femeile COVID-negative și nevaccinate au prezentat o ușoară creștere a expresiei OPN în țesuturile placentare, iar expresia OPN în placenta COVID-pozitivă a fost cea mai scăzută. În mod surprinzător, atât în cazurile gravidelor sănătoase, cât și în cele COVID-pozitive s-au înregistrat procente similare de OPN în compartimentele stromale și epiteliale ale trofoblastului, sugerând o stare relativ stabilă, neinflamatorie. Diferența notabilă a fost observată în grupul pacientelor vaccinate, unde numărul de cazuri OPN-pozitive a fost dublu față de cel al cazurilor OPN-negative. În placentele COVID-negative și nevaccinate, a fost detectată o expresie crescută a anti-COX-2 în trofoblaste, celulele deciduei și celulele imune infiltrate. În urma infecției cu COVID, expresia anti-COX-2 a fost modest crescută în comparație cu nivelurile sale scăzute de expresie în placentele vaccinate, fără cazuri negative de anti-COX-2 la femeile gravide sănătoase și vaccinate. Rezultatele au indicat că femeile din grupul vaccinat au fost semnificativ mai susceptibile de a avea o expresie OPN pozitivă în comparație cu cele din grupul COVID-pozitiv, fără diferențe semnificative în ceea ce privește pozitivitatea OPN între grupul de control și grupul COVID-negativ și fără niciun impact semnificativ al pozitivității CD44 asupra probabilității ca OPN să fie pozitiv. Constatările acestui studiu au reflectat o alterare a structurii și a funcției placentare, ca urmare a modificării expresiei biomarkerilor studiați. S-a detectat un nivel ridicat a expresiilor CD44 și COX-2 în sarcinile normale neinfectate și nevaccinate, ca urmare a procesului fiziologic de formare a placentei, cu scăderea biomarkerilor la femeile infectate cu COVID 19 și modificări mai subtile la persoanele vaccinate. Nivelul de

OPN a rămas similar, posibil din cauza infecției cu COVID 19 în trimestrul trei de sarcină când placenta este deja formată și nu mai suferă modificări semnificative. Cu toate acestea, la gravidele care au fost vaccinate anti COVID 19 în timpul sarcinii incipiente s-au constatat modificări subtile ale proporției de celule OPN pozitive, numărul de celule pozitive fiind aproape dublu față de cel al celulelor negative.

În concluzie, acest lucru subliniază necesitatea unei monitorizări obstetricale mai atente datorită riscului ridicat de complicații materne și fetale în cazul apariției infecției cu COVID 19. Având în vedere rezultatele obținute se pare că infecția cu SARS COV 2 nu aduce modificări semnificative materne și fetale cu excepția complicațiilor apărute în urma infecției cu SARS COV 2 care pot crește mortalitatea și morbiditatea materno-fetale.

Capitolul 4

INTERACȚIUNEA RECEPTORILOR DE VITAMINA D LA FEMEILE ÎNSĂRCINATE ÎN CONTEXTUL PANDEMIEI DE COVID-19 (NEGATIVE, VACCINATE ȘI POZITIVE)

Până în anul 2022, au fost depistate peste 197 de milioane de infecții și s-au constatat 4,2 milioane de decese la nivel mondial de la începutul pandemiei (Joshi *et al.*, 2022). Infecția cu SARS-CoV-2 poate avea un impact negativ asupra diferitelor organe și țesuturi, ducând la diverse manifestări clinice (Bertero *et al.*, 2021). Dincolo de simptomele respiratorii, poate afecta funcția gastrointestinală, poate provoca preeclampsie la femeile gravide (limfopenia, neutrofilia și niveluri ridicate de LDH) (Valdespino-Vázquez *et al.*, 2021), poate afecta funcția hepatică, poate afecta funcția renală și cardiacă și poate provoca probleme neurologice, imune și ale sistemului endocrin (El-Kassas *et al.*, 2023; Tossetta *et al.*, 2022). Accesul virusului în celulele umane se face prin intermediul enzimei de conversie a angiotensinei 2 (ACE-2), ai cărei receptori sunt prezenți abundent pe sincitiotrofoblastul placentar, sugerând o posibilă legătură între infecție și afectarea funcției placentare (Di Girolamo *et al.*, 2021; Garg *et al.*, 2023). Impactul acestei patologii asupra gravidelor și sugarilor prezintă un interes deosebit atât pentru cadrele medicale (medici obstetricieni și pediatri), cât și pentru pacienți (Shanes *et al.*, 2020). Analiza anatomo-patologică a placentelor în timpul epidemiilor trecute s-a dovedit a fi o tehnică extrem de informativă în înțelegerea mecanismului de transmitere a bolii la făt (Schwartz *et al.*, 2021). Deși fiziopatologia nu este încă complet elucidată, placentele imature pot fi ținte mult mai vulnerabile la leziuni mediate viral decât placentele la termen, bine și normal dezvoltate, datorită răspunsului inflamator sistemic sever și al microtrombilor răspândiți la nivelul suprafeței acestora (Patberg *et al.*, 2021).

Durata medie a infecției cu SARS-CoV-2 este de aproximativ 20 de zile, variind între 5 și 60 de zile, astfel încât este posibil ca virusul să ajungă și să afecteze placenta înainte de naștere. Ceea ce înseamnă că virusul poate fi eliminat și nu mai poate fi detectat într-o probă placentară obținută la naștere (Debelenko *et al.*, 2021). Pe de altă parte, infecția în stadiul târziu de gestație poate indica, de asemenea, absența dovezii transmiterii verticale transplacentare SARS-CoV-2 sau, deopotrivă, poate releva un impact semnificativ asupra rezultatului perinatal al nou-născuților, atât în cazuri ușoare, cât și în cazuri mai severe de infecție (Giordano *et al.*, 2021).

Infecția și inflamația multiorganică fetală (inclusiv cea de la nivel pulmonar și renal) produse de SARS-CoV-2 în timpul sarcinii timpurii ar trebui să alerteze clinicienii în evaluarea și monitorizarea femeilor gravide cu privire la posibilele consecințe fetale și efecte adverse perinatale (Valdespino-Vázquez *et al.*, 2021). Chiar și cu un rezultat normal pe termen scurt, nu putem exclude sechelele pe termen lung, cum ar fi consecințele asupra neurodezvoltării nou-născuților (Sarno *et al.*, 2022).

Studiile indică faptul că rata infecției neonatale este mai mare atunci când nașterea se finalizează prin operație cezariană (5,3%), comparativ cu nașterea vaginală (2,7%). Analiza histopatologică a placentei recoltate în cadrul fiecărui caz a inclus examinarea globală macroscopică, colorarea standard cu hematoxilină și eozină, imunohistochimia, hibridizarea fluorescentă *in situ*, microscopia electronică de transmisie, precum și detecția secvențelor virale prin reacția de polimerizare în lanț prin revers transcriptază (RT-PCR) (Di Girolamo *et al.*, 2021).

Studiul a inclus 70 de femei însărcinate sănătoase, 65 de femei COVID-19 pozitive în timpul sarcinii (cu diagnosticul COVID-19 stabilit cu cel puțin 14 zile înainte de naștere) și 35 de femei însărcinate vaccinate (cu prima sau a doua doză Pfizer administrată cu cel puțin 14 zile înainte de naștere), cu probe colectate din ianuarie 2021 până în ianuarie 2023. Ca și criteriile de includere au fost incluse femeile gravide sănătoase, cu infecție cu SARS-CoV-2 în timpul sarcinii și femeile însărcinate vaccinate cu Pfizer. Probele

au fost colectate de la femei sănătoase care au născut la termen fără complicații, boli asociate sau tratament cronic. Au fost excluse pacientele cu afecțiuni maligne, diabet, depresie, sindroame genetice, boli infecțioase sau autoimune, fumat, alte terapii care afectează metabolismul osos și mineral sau suplimentarea cu vitamina D în decurs de trei luni înainte de sarcină.

Colorarea IHC a fost efectuată pe țesuturi fixate în formol, care au fost ulterior încorporate în parafină. Receptorul anti-vitamina D (VDR) a fost diluat 1:3000 și incubat peste noapte la 4°C. Jejunul uman a fost utilizat ca un control pozitiv pentru VDR pentru a asigura specificitatea și sensibilitatea colorării, pentru a valida rezultatele și pentru a exclude rezultatele fals pozitive sau negative. Pentru controlul negativ, probele de țesut au fost tratate într-un mod care nu ar trebui să ducă la colorare, astfel încât probele de țesut să nu exprime antigenul de interes. O sută șaptezeci de probe placentare au fost examinate pentru prezența VDR. Celulele pozitive (culoare maro sau maro-gălbuie în nucleu) din compartimentele epiteliale și stromale au fost considerate VDR pozitive, indiferent de intensitatea colorației sau de numărul de celule pozitive.

Analiza imunohistochimică a relevat diferențe în expresia VDR între grupuri. Astfel grupul femeilor însărcinate pozitive COVID-19 a prezentat cea mai scăzută expresie de VDR și s-a observat o corelație pozitivă semnificativă între vârsta gestațională la naștere și greutatea la naștere a nou-născuților (38,2%).

De asemenea, femeile gravide nevaccinate au o vârstă medie cu 3 ani mai mică față de cele vaccinate (28 comparativ cu 31). Când am analizat grupurile pe baza provenienței lor urbane sau rurale, am detectat că în grupul femeilor pozitive COVID-19, 73% din cazurile incluse au rezidență urbană și aproape 69% din grupul vaccinat, în timp ce în grupul sănătos nevaccinat, distribuția pe rezidență este egală.

Leziunile histologice placentare au fost clasificate, conform criteriilor din Amsterdam. (Giordano *et al.*, 2021).

S-a depus un efort considerabil și au fost realizate cercetări ample pentru a explica mecanismele fiziologice și patologice ale COVID-19, în vederea limitării răspândirii infecției și a consecințelor acesteia. Vitamina D joacă roluri multiple în organismul uman, inclusiv homeostazia calciului, formarea oaselor, dar și modularea atât a sistemului imunitar înăscut, cât și a celui adaptiv (Cyprian *et al.*, 2019).

Receptorul vitaminei D (VDR) este un receptor nuclear care se leagă de vitamina D și acționează ca un factor de transcripție, reglând expresia genelor implicate în diverse funcții biologice (Knabl *et al.*, 2017). Efectele sale asupra producției și acțiunii citokinelor au fost investigate pe larg, arătând reglarea limfocitelor T supresive în sarcini complicate și suprimarea proliferării limfocitelor B și a producției de imunoglobuline (Cyprian *et al.*, 2019). În ciuda utilizării pe scară largă a vitaminelor prenatale, deficitul de vitamina D este frecvent în rândul femeilor însărcinate (Cyprian *et al.*, 2019).

Inițial, s-a crezut că metabolismul vitaminei D apare în principal la nivelul rinichilor, dar s-a demonstrat că sunt implicate și alte organe, cum ar fi glandele pituitare, hipotalamusul, uterul, oviductul, ovarele, glandele mamare și placenta. Vitamina D susține dezvoltarea și funcția placentei prin reglarea transportului calciului, esențială pentru întreținerea sarcinii și prevenirea unui răspuns imun matern împotriva embrionului (Cyprian *et al.*, 2019). De asemenea, datorită expresiei în diferite tipuri de celule, inclusiv trofoblast și celule imune, joacă un rol în reglarea inflamației și imunității în mediul materno-fetal, fiind implicată în funcția barieră a epitelului placentar. În cazul corioamniotitei, care este o afecțiune inflamatorie, s-a observat o scădere a expresiei VDR în placenta afectată (Cookson *et al.*, 2018; Guevara *et al.*, 2020; Knabl *et al.*, 2017).

Scăderea expresiei VDR poate avea consecințe negative asupra funcției imune și inflamației la nivel placentar. De exemplu, scăderea nivelului de VDR poate duce la activarea excesivă a sistemului imunitar și la eliberarea crescută de citokine proinflamatorii, precum și la o rezistență diminuată la infecții în mediul materno-fetal, care pot agrava inflamația și pot afecta schimburile materno-fetale de la nivel placentar.

Având în vedere efectele protectoare importante ale vitaminei D în dezvoltarea fătului, screening-ul nivelurilor de vitamina D în perioada preconcepțională și în primul trimestru de sarcină trebuie recomandat femeilor cu risc crescut de hipovitaminoză D, cum ar fi femeile cu indice de masă corporală ridicat, piele închisă la culoare sau boli autoimune, pentru a putea institui un tratament adecvat precoce și pentru a preveni astfel rezultatele obstetricale adverse (Cyprian *et al.*, 2019).

Cercetările derulate în cadrul tezei de doctorat au avut drept finalitate îmbogățirea cunoștințelor referitoare la microorganismul implicat în apariția diverselor patologii materne și fetale precum și elaborarea unor protocoale de diagnostic, tratament și prevenție a unei astfel de infecții.

Consider că acest studiu este primul din România, în care se încearcă studierea biomarkerilor de la nivel placentar la paciente gravide, astfel putând fi considerat un pionier care poate pune bazele unor ghiduri de prevenție și de ce nu, de identificare cât mai precoce a cauzei care poate contribui la buna evoluție a

unei sarcini. În acest mod putem scădea complicațiile materno-fetale apărute în urma apariției infecției cu SARS-CoV2 asociate sarcinii cu grad crescut de mortalitate și morbiditate atât maternă cât și fetală.

Studiul doctoral a analizat implicarea pe care COVID-19 o are în declanșarea unor evenimente în rândul gravidelor, care pot determina avort spontan, oligohidramnios, restricție de creștere fetală, decolare prematură de placenta normal inserată, hemoragii postpartum, nașteri de feți morți antepartum, scoruri Apgar mici, sindroame virale congenitale, malformații congenitale fetale, preeclampsie – mamă, naștere prematură, necesitatea finalizării nașterii prin operație de cezariană.

Studiul a inclus 70 de femei însărcinate sănătoase, 65 de femei COVID-19 pozitive în timpul sarcinii (cu diagnosticul COVID-19 stabilit cu cel puțin 14 zile înainte de naștere) și 35 de femei însărcinate vaccinate (cu prima sau a doua doză Pfizer administrată cu cel puțin 14 zile înainte de naștere), cu probe colectate din ianuarie 2021 până în ianuarie 2023.

La pacientele care se internează cu iminență de naștere prematură/avort, avort spontan în trimestrul II, naștere declanșată prematur sau membrane rupte prematur, doresc recoltarea probelor pentru testarea PCR a COVID-19 și nivelul seric al vitaminei D în vederea stabilirii implicării acestor factori în nașterea prematură și eventual elaborarea unor protocoale de tratament al acestor cazuri în funcție de valorile markerilor serici sau din lichidul amniotic.

Distribuția pe grupe de vârstă ale femeilor însărcinate incluse au arătat că grupurile pozitive pentru infecția cu COVID-19 au avut cele mai scăzute niveluri de receptor al vitaminei D exprimate pe suprafața celulară. Analiza imunohistochimică a relevat diferențe în expresia VDR între grupuri. Astfel grupul femeilor însărcinate pozitive COVID-19 a prezentat cea mai scăzută expresie de VDR și s-a observat o corelație pozitivă semnificativă între vârsta gestațională la naștere și greutatea la naștere a nou-născuților.

Vârsta medie gestațională la momentul nașterii în cele trei grupuri prezintă diferențe semnificative: femeile însărcinate pozitive COVID-19 și vaccinate COVID-19 au o vârstă gestațională la naștere mai mică (în medie 38 săptămâni) comparativ cu grupul sănătos nevaccinat – 40 săptămâni. Această diferență semnificativă din punct de vedere statistic între cele trei grupuri este, de asemenea, evidentă atunci când se analizează greutatea la naștere a nou-născutului, copiii din grupul sănătos nevaccinat având o greutate mai mare (aproximativ 3500 g) la naștere comparativ cu cei născuți de femei însărcinate vaccinate sau COVID-19 pozitive (aproximativ 3200 g). Cu toate acestea, atunci când am analizat statutul imediat după naștere al nou-născuților, așa cum este reflectat de scorul Apgar, nu am găsit nicio diferență semnificativă între cele trei grupuri.

În ceea ce privește examinarea markerilor serici de infecție / inflamație, nu am identificat nici o diferență din punct de vedere statistic în valorile proteinei C reactive în rândul participantelor însărcinate. Cu toate acestea, femeile gravide fără boală și vaccin administrat au avut valori semnificativ mai mari ale leucocitelor, cu valori egale între cele care au trecut prin infecție. De asemenea, nu a existat o diferență semnificativă statistic în ceea ce privește valorile hemoglobinei și ale hematocritului ante- și postpartum în cazul celor 3 grupuri.

Există o diferență semnificativă între cele trei grupuri analizate, cu un număr semnificativ mai mare de cazuri VDR-negative în probele de țesut provenite din placenta femeilor vaccinate COVID-19. Numărul cazurilor VDR-pozitive este mai mare la femeile însărcinate sănătoase nevaccinate comparativ cu cele COVID-19 pozitive și la cele care au fost vaccinate.

Rezultatele studiului prezentat au reflectat faptul că niveluri similare de proteină C reactivă între cele trei grupuri studiate și valori mai mari ale leucocitelor în grupurile COVID-19-negative și nevaccinate. Sursa acestei inconsecvențe ar putea fi numărul scăzut de cazuri excluse în cercetare, datorită criteriilor stricte de includere și excludere sau poate datorită unor particularități regionale.

În comparație cu placentele provenite de la femeile gravide nevaccinate neinfectate, nu au existat diferențe semnificative în aspectul placentar macroscopic și microscopic, inclusiv greutatea placentei, inserția anormală a cordonului ombilical și malperfuzia vasculară maternă sau fetală. Cu toate acestea, deoarece majoritatea placentelor analizate nu au fost infectate și majoritatea nou-născuților au fost negativi pentru infecția cu coronavirus, constatările provenind în mare parte din examinarea placentelor sănătoase de la fete neinfectate (Schwartz *et al.*, 2021). Analiza histopatologică a placentei a inclus examinarea brută, colorarea hematoxilina – eozină, imunohistochimia și reacția în lanț de polimerizare a revers-transcriptazei (RT-PCR).

Deși am detectat o greutate mai mică la nașterea feților la femeile însărcinate pozitive COVID-19 și vaccinate împotriva COVID-19 comparativ cu grupul de control, diferența nu a fost semnificativă din punct de vedere statistic. Cu toate acestea, am descoperit o expresie ridicată a receptorului vitaminei D în țesutul placentar din cazurile sănătoase nevaccinate COVID-19, comparativ cu celelalte două grupuri din studiu

nostru – cele infectate și cele vaccinate. Aceste două rezultate par să fie conectate, servind drept punct de plecare pentru gestionarea viitoare a acestei afecțiuni în cazul femeilor însărcinate.

Capitolul 5

EXPRESIA MOLECULARA PLACENTARA IN DIFERITE INFECTII VAGINALE CU POTENTIAL PATOGEN

Una dintre cele mai frecvente patologii întâlnite în timpul sarcinii sunt infecțiile vaginale, care joacă un rol semnificativ în apariția rezultatelor adverse materne și fetale, crescând atât morbiditatea și mortalitatea neonatală, cât și cea maternă (Daskalakis *et al.*, 2023). Infecțiile vaginale pot duce la endometrită, naștere prematură (NP), ruptură prematură a membranelor sau ruptură precoce prematură a membranelor (PROM/PPROM), avort spontan, restricție de creștere intrauterină (IUGR), greutate mică la naștere (LBW), infecție fetală și, în cazurile severe, deces fetal (Daskalakis *et al.*, 2023; Tita & Andrews, 2010; Williams *et al.*, 2000).

Corioamniotita poate debuta înainte de travaliu, în timpul travaliului sau după naștere și poate fi acută, subacută sau cronică. Această infecție este asociată cu boala pulmonară cronică la sugar, cu retinopatia prematurității, greutatea foarte scăzută la naștere și dezvoltarea afectată a creierului la sugarul prematur sau chiar cu transmisia verticală a procesului infecțios (Chansamouth *et al.*, 2016; Dautt-Leyva *et al.*, 2018).

O varietate de microorganisme sunt implicate în infecțiile tractului genital al femeilor în timpul sarcinii, inclusiv *Streptococul de grup B* (GBS), *Escherichia coli* (*E. Coli*), *Neisseria gonorrhoeae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter spp.*, *Trichomonas vaginalis*, *Candida spp.* și vaginozele bacteriene (VB). Microorganismele responsabile de boala inflamatorie pelvină, cum ar fi *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* și *Chlamydia trachomatis*, contribuie și ele în egală măsură (Daskalakis *et al.*, 2023). În special *Mycoplasma* și *Ureaplasma* generează substanțe citotoxice care amplifică inflamația prin inducerea sintezei ciclooxygenazei-2 (COX-2) și formarea ulterioară de prostaglandine. Modificările hormonale din timpul sarcinii cresc susceptibilitatea la *Candida spp.* Cu colonizarea vaginală observată la aproximativ 40% dintre femeile gravide, deși, în general, aceasta duce la complicații mai puțin severe în comparație cu alte infecții, cum ar fi avortul spontan tardiv, NP și corioamniotita (Daskalakis *et al.*, 2023). Această cercetare a fost efectuată în vederea descoperirii cauzelor care stau la baza apariției răspunsului inflamator, evaluând patru molecule strâns legate cu roluri semnificative în inflamație, structura și funcția placentară: receptorul vitaminei D (VDR), Clusterul de diferențiere 44 (CD44), osteopontina (OPN) și ciclooxygenaza-2 (COX-2).

Această cercetare a avut drept scop, investigarea modului în care diferite tipuri de infecții vaginale din timpul sarcinii modifică expresia VDR, CD44, OPN și COX-2, contribuind la modificări structurale și funcționale placentare. Prin analiza acestor markeri sperăm să obținem o explicație plauzibilă cu privire la motivul pentru care unele dintre microorganisme au un impact negativ mai semnificativ asupra rezultatelor materne și fetale decât altele.

Culturile vaginale au fost recoltate (culturi vaginale simple și culturi vaginale pe medii speciale) de la paciente înainte de inițierea tratamentului cu antibiotic, în momentul internării în spital. Probele au fost colectate fără utilizarea antisepticelor și s-au efectuat culturi.

Un număr de patru probe de țesut din fiecare placenta, câte una reprezentativă pentru fiecare cadran au fost prelevate. Secțiunile de hematoxină și eozină (H&E) și analiza imunohistochimică (IHC) au fost realizate și examinate anatomopatologic. Colorația IHC a fost efectuată pe țesuturi fixate în formol, incluse în parafină, utilizând anticorpi monoclonali împotriva VDR, CD44, OPN și COX-2.

Această cercetare a avut drept scop, investigarea modului în care diferite tipuri de infecții vaginale din timpul sarcinii modifică expresia VDR, CD44, OPN și COX-2, contribuind la modificări structurale și funcționale placentare. Prin analiza acestor markeri sperăm să obținem o explicație plauzibilă cu privire la motivul pentru care unele dintre microorganisme au un impact negativ mai semnificativ asupra rezultatelor materne și fetale decât altele.

Pacientele au fost grupate în funcție de vârsta maternă și vârsta gestațională la momentul internării. Astfel au fost realizate 3 grupe experimentale:

- Grupul 1 – 28-32 de săptămâni de sarcină;
- Grupul 2 – 33-36 de săptămâni de sarcină;
- Grupul 3 – mai mult de 37 de săptămâni de sarcină;

Culturile vaginale au fost recoltate (culturi vaginale simple și culturi vaginale pe medii speciale) de la paciente înainte de inițierea tratamentului cu antibiotic, în momentul internării în spital. Probele au fost colectate fără utilizarea antisepticelor și s-au efectuat culturi. Specimenele pentru grupul de control au fost recoltate de la femeile care au născut la termen, fără infecții vaginale, complicații, boli asociate sau tratament cronic. Au fost excluse din analiză femeile cu complicații obstetricale și/sau alte complicații medicale. Pentru detectarea *Ureaplasma* și *Mycoplasma*, au fost utilizate kituri bioMérieux, cu culturi efectuate pe un mediu selectiv. Pentru detectarea celorlalte bacterii implicate în infecții genitale la femeile gravide, medii de cultură selective și diferențiale. Pentru detectarea fungică, a fost folosit kit-ul ELITech CANDIFAST®. Pe lângă culturile vaginale recoltate, s-au prelevat și probe de sânge pentru a evidenția infecția/corioamniotita (leucocite, proteina C reactivă, VSH). Un număr de patru probe de țesut din fiecare placenta, câte una reprezentativă pentru fiecare cadran au fost prelevate. Secțiunile de hematoxină și eozină (H&E) și analiza imunohistochimică (IHC) au fost realizate și examinate în laboratorul de anatomopatologie. Toate probele placentare au fost examinate pentru prezența VDR, CD44, OPN și COX-2.

Eșantionarea pacienților a fost realizată astfel: 70 de gravide sănătoase la termen au fost incluse în grupul de control și 78 de gravide din trimestrul al treilea cu infecție vaginală cu un singur agent patogen identificat la cultura vaginală au fost incluse în grupul cu infecție vaginală. În urma analizării datelor, am detectat diferențe semnificative din punct de vedere statistic în ceea ce privește vârsta gestațională la naștere. Femeile gravide fără infecție vaginală au născut, în medie, cu 5 săptămâni mai târziu decât cele din grupul cu infecție vaginală prezentă. În consecință, greutatea medie la naștere între cele două grupuri ale noastre a fost, de asemenea, diferită, cu aproximativ 1000 de grame. După cum era de așteptat, valoarea medie a CRP este, de asemenea, semnificativă statistic, de 8 ori mai mare la gravidele cu infecții vaginale.

Rezultatele obținute descriu o multitudine de agenți patogeni implicați în infecțiile vaginale, *E. coli* și GBS ocupând primele două poziții, urmate îndeaproape, cu procentaje similare, de *Candida spp.*, *Enterococcus* și *Ureaplasma urealyticum*, incidența cea mai scăzută aparținând infecției vaginale cu *Klebsiella*. Analizele markerilor realizați în cadrul studiului indică o variabilitate în expresia acestora. Femeile gravide cu infecții vaginale au prezentat niveluri mai scăzute de CD44 comparativ cu controalele, OPN a prezentat expresii diferite în funcție de agentul patogen implicat, astfel a fost identificat o expresie semnificativ mai mare în grupul cu infecție vaginală comparativ cu grupul control. COX-2 a fost exprimat în mod egal în aproape toate cazurile, iar VDR a fost pozitiv în trei sferturi din toate cazurile de infecție vaginală incluse.

Infecțiile cauzate de *E. coli*, *Klebsiella*, GBS, *Enterococcus faecalis*, *Candida spp.* și *Ureaplasma urealyticum* pot modifica semnificativ expresia VDR, CD44, OPN și COX-2 la nivel placentar. Constatările indică faptul că expresia la nivel tisular VDR a fost în general variabilă, dar adesea scăzută, în timp ce CD44 a fost crescută în majoritatea infecțiilor. OPN a fost în mare parte absent iar, în schimb, expresia COX-2 a fost crescută în majoritatea cazurilor cu infecții vaginale.

Rezultatele noastre sugerează că femeile gravide prezintă un risc crescut de **1,67 ori** de a dezvolta o infecție vaginală în cazul în care sunt **CD44-negative**, un risc crescut de **1,102 ori** în cazul în care sunt **VDR-negative**, și un risc crescut de **2,933 ori** de a avea o infecție vaginală dacă sunt **OPN-pozitive**.

Pana în prezent sunt multe variabile încă necunoscute în ceea ce privește rezultatele materne și fetale la femeile gravide cu diferite infecții vaginale, Oh și colab. subliniind limitările studiilor în identificarea infecțiilor prin tehnici standard de cultură vaginală la femeile cu nașteri premature și corioamniotită clinică (Witt *et al.*, 2020).

Studiul realizat suscită controverse în literatura de specialitate cu privire la aceste aspecte, sperând să ofere o posibilă explicație histologică plauzibilă pentru neconcordanțele existente. Datorită faptului că microbiomul vaginal este extrem de divers în funcție de o multitudine de factori extrinseci și intrinseci, am decis studierea moleculelor-cheie de suprafață placentară pentru a detecta impactul placentar real al infecției vaginale. Manifestările clinice ale femeilor cu infecții vaginale incluse în studiu au variat foarte mult, de la semne și simptome caracteristice corioamniotitei la paciente asimptomatice.

Similar observațiilor prezentate, studiile Al-Adnani *et al.* și N.J. Sebire *et al.* au evidențiat infarcte septice, trombi interviloși și vilite necrozante însoțite de inflamație periviloasă la femeile cu infecții vaginale, în contrast cu constatările din grupul de control în examinarea H&E placentară (Al-Adnani & Sebire, 2007; Heerema-McKenney, 2018).

În conformitate cu rezultatele din literatura de specialitate, rezultatele indică o vârstă gestațională mai mică, cu o greutate mai mică la naștere ca și consecință, la femeile cu PROM și PPROM cu culturi

vaginale pozitive (Holliday *et al.*, 2023; H. Li *et al.*, 2022). Grupul cu infecție vaginală prezintă un scor Apgar ușor mai scăzut comparativ cu grupul de control. Diferența minimă poate fi din cauza criteriilor noastre de includere, fiind selectate doar sarcinile > 28 săptămâni de gestație, cu culturi vaginale pozitive și sarcinile la termen cu culturi vaginale negative în grupul de control. Grupul cu infecții vaginale a prezentat un număr mai mare de leucocite comparativ cu grupul de control. Cu toate acestea, diferența nu a fost semnificativă din punct de vedere statistic. O posibilă explicație ar putea fi faptul că femeile au ajuns la spital sub 12 ore după PROM/PPROM, unde, după admitere, au fost recoltate culturi vaginale și probe de sânge și a fost inițiată terapia antibiotică empirică. Dar diferența valorilor CRP între cele două grupuri a fost semnificativă din punct de vedere statistic, cu niveluri mai ridicate observate în grupul cu infecție vaginală.

Placenta este esențială pentru dezvoltarea și bunăstarea fătului. În ciuda cercetărilor extinse privind multitudinea de roluri și funcții ale acesteia, multe aspecte rămân în mare parte necunoscute (Cao *et al.*, 2021). Cele patru molecule studiate VDR, CD44, OPN și COX-2 sunt implicate în multe dintre procesele placentare (Baines *et al.*, 2023; Cao *et al.*, 2021; Choi *et al.*, 2006; Gonzalez *et al.*, 2007). Rezultatele noastre arată că GBS și *Ureaplasma urealyticum* exercită impactul cel mai semnificativ asupra celor patru markeri studiați, cu niveluri tisulare placentare ridicate de VDR, CD44, OPN și COX-2. De asemenea, *Enterococcus*, *E. coli* și absența infecției vaginale din grupul de control prezintă aproape același impact asupra nivelului markerilor menționați anterior, OPN fiind cel mai puțin afectat. Infecțiile vaginale cu *Candida* determină alterări minore ale expresiei tisulare a acestor markeri, mai mici decât expresia observată la grupul de control. Cel mai puțin semnificativ impact este exercitat de infecția cu *Klebsiella*. Prin urmare, conform observațiilor relatate în studiu, cele mai agresive microorganisme rămân GBS și *Ureaplasma*.

Probele de țesut de la femeile gravide incluse în studiu, atât din grupul cu infecție vaginală, cât și din grupul de control, au prezentat o pozitivitate intensă similară pentru COX-2. Astfel, expresia acestei molecule este mai degrabă legată de inflamație decât de infecție. Nivelurile COX-2 ridicate din ambele grupuri pot fi posibil explicate prin faptul că am colectat țesut placentar pentru grupul de control de la sarcini la termen în apropierea travaliului cu expresie crescută a COX-2 și cu producția de prostaglandine care a inițiat nașterea (Urrego *et al.*, 2019).

Vitamina D, mediată de VDR, exercită roluri cheie în țesutul reproducător, inclusiv în vagin. Aceasta reglează moleculele antimicrobiene care protejează împotriva infecțiilor bacteriene și poate influența, de asemenea, producția de defensină și funcția neutrofilelor (Anderson *et al.*, 2020). Cercetătorii au făcut o observație considerabilă cu privire la suplimentarea cu vitamina D, evidențiind astfel un rezultat favorabil consecutiv și scăderea frecvenței infecției vaginale cu *E. coli*. De asemenea, după cum sugerează studiul Cao *et al.* 2021, vitamina D reglează semnalizarea și expresia COX-2 în jos, reducând inflamația (Cao *et al.*, 2021). Am identificat niveluri crescute de VDR placentar în cazurile cu infecții vaginale SGB, *Ureaplasma urealyticum* și *Enterococcus*.

Probele de țesut din grupul de control fără infecții vaginale au prezentat expresii VDR similare cu cele ale femeilor cu vaginită, *Candida* și *E. coli*. Aceste rezultate pot fi explicate prin patogenitatea oportunistă atât a *E. coli*, cât și a *Candida* (d'Enfert *et al.*, 2021; O'Brien *et al.*, 2019).

Analizând distribuția OPN în probe, am detectat niveluri similare ale acestei molecule de modulare a inflamației și a imunității atât la probele din grupul de control, cât și la probele infectate cu enterobacterii gram-negative. Observațiile fiind similare cu cele ale lui Salvi și colab. care au subliniat niveluri crescute de OPN în infecțiile gram-pozitive care receptorul Toll-like (TLR) 2, și niveluri mai scăzute în agenții patogeni gram-negativi care declanșează TLR 3 și 4 (Salvi *et al.*, 2013).

Toți primii trei markeri, cu excepția COX-2, par să fie corelați cu severitatea infecției vaginale și agentul patogen cauzal al acesteia în ultimul trimestru de sarcină. Suplimentarea cu vitamina D ar putea fi extrem de benefică în scăderea susceptibilității gazdei la infecțiile vaginale prin scăderea expresiei placentare VDR. De asemenea, dacă rezultatele sunt confirmate de studii populaționale mai ample, putem încerca să dezvoltăm agenți anti CD44 și OPN, locali sau sistemici, pentru a încerca să controlăm severitatea răspunsului imun al gazdei în corioamniotită.

Limitările studiului constau în special în numărul redus de cazuri incluse. În ciuda similitudinii cu rezultatele din literatura de specialitate, constatările anterior descrise și discutate trebuie luate în considerare cu precauție, până când studii mai mari le confirmă. O altă limitare rezultă din includerea vaginitelor cu un singur agent patogen, multe dintre infecțiile vaginale fiind secundare a doi sau mai mulți agenți patogeni și prin faptul că grupul de control a fost compus doar din sarcini la termen.

S-a reușit detectarea variabilităților privind aderența placentară, angiogeneză, migrație, diferențiere celulară și expresia moleculelor de modulare imună (VDR, CD44, OPN și COX-2) în diferite infecții vaginale.

Deși prezintă efecte considerabile în cazul apariției infecției, agenții patogeni gram-negativi reușesc să eludeze sistemul imunitar al gazdei. Acest aspect a fost vizibil și în rezultatele prezentate, cu niveluri mai scăzute de pozitivitate IHC pentru moleculele menționate mai sus în infecțiile vaginale cu *E. coli*, *Enterobacter* și *Klebsiella*. Agenții patogeni cu cea mai mare pozitivitate IHC pentru VDR, CD44, OPN și COX-2 au fost *GBS* și *Ureaplasma urealyticum*. De asemenea, cea mai frecventă infecție vaginală în timpul sarcinii, este considerată cea cu *Candida spp.*, care a dus la o expresie scăzută a IHC a acestor markeri tisulari.

Concluzii

Expresia biomarkerilor celulari placentari (Osteopontina, Fosfohistona 3, Receptorul de vitamina D, CD44, COX-2) este influențată semnificativ de statusul infectării cu SARS-CoV-2, diferențele fiind evidente între femeile gravide negative, vaccinate și pozitive.

Infecția cu SARS-CoV-2 în sarcină poate conduce la modificări histopatologice placentare semnificative, care implică hipoperfuzia vasculară maternă și fetală, inflamație acută și cronică, tromboze intervilozice și depuneri crescute de fibrină.

Nivelurile receptorului de vitamina D (VDR) în placenta au arătat o variabilitate considerabilă în funcție de statusul imunologic indus de infecția sau vaccinarea împotriva COVID-19, ceea ce susține ideea unui rol imunomodulator important al acestui receptor în timpul sarcinii.

Cercetarea a demonstrat alterări semnificative în structura și funcția placentară, reflectate de expresia modificată a markerilor CD44, COX-2 și OPN. S-a constatat o expresie crescută a CD44 și COX-2 în placentele gravidelor neinfectate și nevaccinate, reflectând un proces fiziologic normal de placentație. În schimb, în cazul pacientelor infectate cu SARS-CoV-2, aceste expresii au fost semnificativ reduse, sugerând o disfuncție placentară inflamatorie indusă viral. Grupul vaccinat a prezentat valori intermediare, ceea ce poate indica un efect protector parțial al vaccinării asupra trofoblastului.

Rezultatele au evidențiat variații notabile ale expresiei VDR, CD44, OPN și COX-2 în placentele femeilor cu infecții vaginale în trimestrul III de sarcină. Patogenii gram-negativi (*E. coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella*) s-au asociat cu niveluri reduse ale acestor markeri, indicând o capacitate crescută de eludare a imunității materne. În contrast, *Streptococcus agalactiae* (GBS) și *Ureaplasma urealyticum* au prezentat cele mai ridicate niveluri ale expresiei imunohistochimice.

Studiul oferă o bază pentru actualizarea protocoalelor clinice privind monitorizarea gravidelor în contextul infecțiilor virale și bacteriene, evidențiind importanța screeningului precoce al florei vaginale și a intervenției imunomodulatoare în sarcinile cu risc.

Mai mult decât atât, studiile efectuate în lucrare susțin ipoteza că dereglările florei vaginale și infecțiile genitale reprezintă factori declanșatori pentru evenimente obstetricale adverse precum nașterea prematură, ruptura prematură a membranelor și corioamniotita.

Analiza imunohistochimică a placentei în contextul pandemiei COVID-19 oferă indicii relevante asupra mecanismelor inflamatorii implicate în patologia obstetricală, fiind un instrument valoros pentru diagnostic și prevenție.

Rezultatele sugerează că imunizarea gravidelor contribuie nu doar la prevenirea infecției virale severe, ci și la menținerea unei funcționalități placentare optime

Vaccinarea gravidelor a fost asociată cu un profil histologic placentar mai apropiat de cel al pacientelor neinfectate, sugerând un rol protector al imunizării în contextul infecției SARS-CoV-2.

Prin urmare infecțiile vaginale cu agenții patogeni studiați au avut un impact important asupra mortalității și morbidității materno-fetale și neonatale, influențând calitatea vieții din punct de vedere socio-emoțional.

REFERINȚE

- Al-Adnani, M., & Sebire, N. J. (2007). The role of perinatal pathological examination in subclinical infection in obstetrics. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 21(3), 505–521. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2007.02.001>

- Anderson, S. M., Thurman, A. R., Chandra, N., Jackson, S. S., Asin, S., Rollenhagen, C., Ghosh, M., Daniels, J., Vann, N. C., Clark, M. R., & Doncel, G. F. (2020). Vitamin D Status Impacts Genital Mucosal Immunity and Markers of HIV-1 Susceptibility in Women. *Nutrients*, 12(10), 3176. <https://doi.org/10.3390/nu12103176>
- Baines, K. J., Klausner, M. S., Patterson, V. S., & Renaud, S. J. (2023). Interleukin-15 deficient rats have reduced osteopontin at the maternal-fetal interface. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1079164>
- Bermick, J., Gallagher, K., denDekker, A., Kunkel, S., Lukacs, N., & Schaller, M. (2019). Chorioamnionitis exposure remodels the unique histone modification landscape of neonatal monocytes and alters the expression of immune pathway genes. *The FEBS Journal*, 286(1), 82–109. <https://doi.org/10.1111/febs.14728>
- Bertero, L., Borella, F., Botta, G., Carosso, A., Cosma, S., Bovetti, M., Carosso, M., Abbona, G., Collemi, G., Papotti, M., Cassoni, P., & Benedetto, C. (2021). Placenta histopathology in SARS-CoV-2 infection: analysis of a consecutive series and comparison with control cohorts. *Virchows Archiv*, 479(4), 715–728. <https://doi.org/10.1007/s00428-021-03097-3>
- Brown, R. G., Al-Memar, M., Marchesi, J. R., Lee, Y. S., Smith, A., Chan, D., Lewis, H., Kindinger, L., Terzidou, V., Bourne, T., Bennett, P. R., & MacIntyre, D. A. (2019). Establishment of vaginal microbiota composition in early pregnancy and its association with subsequent preterm prelabor rupture of the fetal membranes. *Translational Research*, 207, 30–43. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2018.12.005>
- Cao, Y., Jia, X., Huang, Y., Wang, J., Lu, C., Yuan, X., Xu, J., & Zhu, H. (2021). Vitamin D stimulates miR-26b-5p to inhibit placental COX-2 expression in preeclampsia. *Scientific Reports*, 11(1), 11168. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90605-9>
- Chansamouth, V., Thammasack, S., Phetsouvanh, R., Keoluangkot, V., Moore, C. E., Blacksell, S. D., Castonguay-Vanier, J., Dubot-Pères, A., Tangkhabuanbutra, J., Tongyoo, N., Souphaphonh, P., Sengvilaipaseuth, O., Vongsouvath, M., Phommasone, K., Sengdethka, D., Seurbsanith, A., Craig, S. B., Hermann, L., Strobel, M., & Newton, P. N. (2016). The Aetiologies and Impact of Fever in Pregnant Inpatients in Vientiane, Laos. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 10(4), e0004577. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004577>
- Choi, C. H., Roh, C. R., Kim, T.-J., Choi, Y.-L., Lee, J.-W., Kim, B.-G., Lee, J.-H., & Bae, D.-S. (2006). Expression of CD44 adhesion molecules on human placentae. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 128(1–2), 243–247. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2006.01.017>
- Cookson, M., Ryan, S., Seedorf, G., Dodson, R., Abman, S., & Mandell, E. (2018). Antenatal Vitamin D Preserves Placental Vascular and Fetal Growth in Experimental Chorioamnionitis Due to Intra-amniotic Endotoxin Exposure. *American Journal of Perinatology*, 35(13), 1260–1270. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1642033>
- Cyprian, F., Lefkou, E., Varoudi, K., & Girardi, G. (2019). Immunomodulatory Effects of Vitamin D in Pregnancy and Beyond. *Frontiers in Immunology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02739>
- Daskalakis, G., Psarris, A., Koutras, A., Fasoulakis, Z., Prokopakis, I., Varthaliti, A., Karasmani, C., Ntounis, T., Domali, E., Theodora, M., Antsaklis, P., Pappa, K. I., & Papapanagiotou, A. (2023). Maternal Infection and Preterm Birth: From Molecular Basis to Clinical Implications. *Children*, 10(5), 907. <https://doi.org/10.3390/children10050907>
- Dautt-Leyva, J. G., Canizalez-Román, A., Acosta Alfaro, L. F., Gonzalez-Ibarra, F., & Murillo-Llanes, J. (2018). Maternal and perinatal complications in pregnant women with urinary tract infection caused by <scp>Escherichia coli </scp>. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 44(8), 1384–1390. <https://doi.org/10.1111/jog.13687>

- Debelenko, L., Katsyv, I., Chong, A. M., Peruyero, L., Szabolcs, M., & Uhlemann, A.-C. (2021). Trophoblast damage with acute and chronic intervillitis: disruption of the placental barrier by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *Human Pathology*, 109, 69–79. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2020.12.004>
- d'Enfert, C., Kaune, A.-K., Alaban, L.-R., Chakraborty, S., Cole, N., Delavy, M., Kosmala, D., Marsaux, B., Fróis-Martins, R., Morelli, M., Rosati, D., Valentine, M., Xie, Z., Emritloll, Y., Warn, P. A., Bequet, F., Bougnoux, M.-E., Bornes, S., Gresnigt, M. S., ... Brown, A. J. P. (2021). The impact of the Fungus-Host-Microbiota interplay upon *Candida albicans* infections: current knowledge and new perspectives. *FEMS Microbiology Reviews*, 45(3). <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa060>
- Di Girolamo, R., Khalil, A., Alameddine, S., D'Angelo, E., Galliani, C., Matarrelli, B., Buca, D., Liberati, M., Rizzo, G., & D'Antonio, F. (2021). Placental histopathology after SARS-CoV-2 infection in pregnancy: a systematic review and meta-analysis. *American Journal of Obstetrics & Gynecology MFM*, 3(6), 100468. <https://doi.org/10.1016/j.ajogmf.2021.100468>
- El-Kassas, M., Alboraie, M., Elbadry, M., El Sheemy, R., Abdellah, M., Afify, S., Madkour, A., Zaghloul, M., Awad, A., Wifi, M.-N., Al Balakosy, A., & Eltabbakh, M. (2023). Non-pulmonary involvement in COVID-19: A systemic disease rather than a pure respiratory infection. *World Journal of Clinical Cases*, 11(3), 493–505. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v11.i3.493>
- Garg, R., Agarwal, R., Yadav, D., Singh, S., Kumar, H., & Bhardwaj, R. (2023). Histopathological Changes in Placenta of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-Cov-2) Infection and Maternal and Perinatal Outcome in COVID-19. *The Journal of Obstetrics and Gynecology of India*, 73(1), 44–50. <https://doi.org/10.1007/s13224-022-01666-3>
- Giordano, G., Petrolini, C., Corradini, E., Campanini, N., Esposito, S., & Perrone, S. (2021). COVID-19 in pregnancy: placental pathological patterns and effect on perinatal outcome in five cases. *Diagnostic Pathology*, 16(1), 88. <https://doi.org/10.1186/s13000-021-01148-6>
- Gonzalez, J. M., Xu, H., Ofori, E., & Elovitz, M. A. (2007). Toll-like receptors in the uterus, cervix, and placenta: is pregnancy an immunosuppressed state? *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 197(3), 296.e1-296.e6. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2007.06.021>
- Gonçalves, B. P., Procter, S. R., Paul, P., Chandna, J., Lewin, A., Seedat, F., Koukounari, A., Dangor, Z., Leahy, S., Santhanam, S., John, H. B., Bramugy, J., Bardají, A., Abubakar, A., Nasambu, C., Libster, R., Sánchez Yanotti, C., Horváth-Puhó, E., Sørensen, H. T., ... Mahtab, S. (2022). Group B streptococcus infection during pregnancy and infancy: estimates of regional and global burden. *The Lancet Global Health*, 10(6), e807–e819. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(22\)00093-6](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(22)00093-6)
- Guevara, M. A., Lu, J., Moore, R. E., Chambers, S. A., Eastman, A. J., Francis, J. D., Noble, K. N., Doster, R. S., Osteen, K. G., Damo, S. M., Manning, S. D., Aronoff, D. M., Halasa, N. B., Townsend, S. D., & Gaddy, J. A. (2020). Vitamin D and Streptococci: The Interface of Nutrition, Host Immune Response, and Antimicrobial Activity in Response to Infection. *ACS Infectious Diseases*, 6(12), 3131–3140. <https://doi.org/10.1021/acscinfecdis.0c00666>
- Guzeloglu-Kayisli, O., Kayisli, U. A., Semerci, N., Basar, M., Buchwalder, L. F., Buhimschi, C. S., Buhimschi, I. A., Arcuri, F., Larsen, K., Huang, J. S., Schatz, F., & Lockwood, C. J. (2015). Mechanisms of chorioamnionitis-associated preterm birth: interleukin-1 β inhibits progesterone receptor expression in decidual cells. *The Journal of Pathology*, 237(4), 423–434. <https://doi.org/10.1002/path.4589>
- Heerema-McKenney, A. (2018). Defense and infection of the human placenta. *APMIS*, 126(7), 570–588. <https://doi.org/10.1111/apm.12847>
- Holliday, M., Uddipto, K., Castillo, G., Vera, L. E., Quinlivan, J. A., & Mendz, G. L. (2023). Insights into the Genital Microbiota of Women Who Experienced Fetal Death in Utero. *Microorganisms*, 11(8), 1877. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11081877>

- Hord, T. K., Aubone, A. M. P., Ali, A., Templeton, H. N., Evans, R., Bruemmer, J. E., Winger, Q. A., & Bouma, G. J. (2020). Placenta specific gene targeting to study histone lysine demethylase and androgen signaling in ruminant placenta. *Animal Reproduction*, 17(3). <https://doi.org/10.1590/1984-3143-ar2020-0069>
- Joshi, B., Chandi, A., Srinivasan, R., Saini, S. S., Prasad, G. R. V., Puri, G. D., Bhalla, A., Suri, V., & Bagga, R. (2022). The placental pathology in Coronavirus disease 2019 infected mothers and its impact on pregnancy outcome. *Placenta*, 127, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2022.07.009>
- Knabl, J., Vattai, A., Ye, Y., Jueckstock, J., Hutter, S., Kainer, F., Mahner, S., & Jeschke, U. (2017). Role of Placental VDR Expression and Function in Common Late Pregnancy Disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(11), 2340. <https://doi.org/10.3390/ijms18112340>
- Kesby, J. P., Eyles, D. W., Burne, T. H. J., & McGrath, J. J. (2011). The effects of vitamin D on brain development and adult brain function. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 347(1–2), 121–127. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2011.05.014>
- Marzioni, D., Crescimanno, C., Zaccheo, D., Coppari, R., Underhill, C., & Castellucci, M. (2009). Hyaluronate and CD44 expression patterns in the human placenta throughout pregnancy. *European Journal of Histochemistry*, 45(2), 131. <https://doi.org/10.4081/1623>
- O'Brien, V. P., Gilbert, N. M., Lebratti, T., Agarwal, K., Foster, L., Shin, H., & Lewis, A. L. (2019). Low-dose inoculation of Escherichia coli achieves robust vaginal colonization and results in ascending infection accompanied by severe uterine inflammation in mice. *PLOS ONE*, 14(7), e0219941. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219941>
- Patberg, E. T., Adams, T., Rekawek, P., Vahanian, S. A., Akerman, M., Hernandez, A., Rapkiewicz, A. V., Ragolia, L., Sicuranza, G., Chavez, M. R., Vintzileos, A. M., & Khullar, P. (2021). Coronavirus disease 2019 infection and placental histopathology in women delivering at term. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 224(4), 382.e1–382.e18. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.10.020>
- Peaceman, A., Lai, Y., Rouse, D., Spong, C., Mercer, B., Varner, M., Thorp, J., Ramin, S., Malone, F., O'Sullivan, M., & Hankins, G. (2014). Length of Latency with Preterm Premature Rupture of Membranes before 32 Weeks' Gestation. *American Journal of Perinatology*, 32(01), 057–062. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1373846>
- Prochaska, E., Jang, M., & Burd, I. (2020). COVID-19 in pregnancy: Placental and neonatal involvement. *American Journal of Reproductive Immunology*, 84(5). <https://doi.org/10.1111/aji.13306>
- Romero, R., Dey, S. K., & Fisher, S. J. (2014). Preterm labor: One syndrome, many causes. *Science*, 345(6198), 760–765. <https://doi.org/10.1126/science.1251816>
- Salvi, V., Scutera, S., Rossi, S., Zucca, M., Alessandria, M., Greco, D., Bosisio, D., Sozzani, S., & Musso, T. (2013). Dual regulation of osteopontin production by TLR stimulation in dendritic cells. *Journal of Leukocyte Biology*, 94(1), 147–158. <https://doi.org/10.1189/jlb.0412194>
- Sarno, L., Locci, M., Fulgione, C., Perillo, F., Dell'Isola, A., Mantelli, D., Sibillo, C., Saccone, G., Maruotti, G. M., Terracciano, D., Bifulco, G., Guida, M., & D'Armiento, M. (2022). Characteristics of Placental Histopathology in Women with Uncomplicated Pregnancies Affected by SARS-CoV-2 Infection at the Time of Delivery: A Single-Center Experience. *Biomedicines*, 10(12), 3003. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10123003>
- Schwartz, D. A., Bugatti, M., Santoro, A., & Facchetti, F. (2021). Molecular Pathology Demonstration of SARS-CoV-2 in Cytotrophoblast from Placental Tissue with Chronic Histiocytic Intervillositis, Trophoblast Necrosis and COVID-19. *Journal of Developmental Biology*, 9(3), 33. <https://doi.org/10.3390/jdb9030033>

- Shanes, E. D., Mithal, L. B., Otero, S., Azad, H. A., Miller, E. S., & Goldstein, J. A. (2020). Placental Pathology in COVID-19. *American Journal of Clinical Pathology*, 154(1), 23–32. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqaa089>
- Tita, A. T. N., & Andrews, W. W. (2010). Diagnosis and Management of Clinical Chorioamnionitis. *Clinics in Perinatology*, 37(2), 339–354. <https://doi.org/10.1016/j.clp.2010.02.003>
- Tossetta, G., Fantone, S., delli Muti, N., Balercia, G., Ciavattini, A., Giannubilo, S. R., & Marzioni, D. (2022). Preeclampsia and severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection: a systematic review. *Journal of Hypertension*, 40(9), 1629–1638. <https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000003213>
- Thomas, J. R., Appios, A., Zhao, X., Dutkiewicz, R., Donde, M., Lee, C. Y. C., Naidu, P., Lee, C., Cerveira, J., Liu, B., Ginhoux, F., Burton, G., Hamilton, R. S., Moffett, A., Sharkey, A., & McGovern, N. (2021). Phenotypic and functional characterization of first-trimester human placental macrophages, Hofbauer cells. *Journal of Experimental Medicine*, 218(1). <https://doi.org/10.1084/jem.20200891>
- Urrego, D., Liwa, A. C., Cole, W. C., Wood, S. L., & Slater, D. M. (2019). Cyclooxygenase inhibitors for treating preterm labour: What is the molecular evidence? *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 97(3), 222–231. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2018-0380>
- Valdespino-Vázquez, M. Y., Helguera-Repetto, C. A., León-Juárez, M., Villavicencio-Carrisoza, O., Flores-Pliego, A., Moreno-Verduzco, E. R., Díaz-Pérez, D. L., Villegas-Mota, I., Carrasco-Ramírez, E., López-Martínez, I. E., Giraldo-Gómez, D. M., Lira, R., Yocupicio-Monroy, M., Rodríguez-Bosch, M., Sevilla-Reyes, E. E., Cortés-Bonilla, M., Acevedo-Gallegos, S., Merchant-Larios, H., Cardona-Pérez, J. A., & Irlles, C. (2021). Fetal and placental infection with SARS-CoV-2 in early pregnancy. *Journal of Medical Virology*, 93(7), 4480–4487. <https://doi.org/10.1002/jmv.26965>
- Vogel, I., Thorsen, P., Hogan, V. K., Schieve, L. A., Jacobsson, B., & Ferre, C. D. (2006). The joint effect of vaginal *Ureaplasma urealyticum* and bacterial vaginosis on adverse pregnancy outcomes. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 85(7), 778–785. <https://doi.org/10.1080/00016340500442423>
- Williams, M. C., O'Brien, W. F., Nelson, R. N., & Spellacy, W. N. (2000). Histologic chorioamnionitis is associated with fetal growth restriction in term and preterm infants. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 183(5), 1094–1099. <https://doi.org/10.1067/mob.2000.108866>

Lista lucrarilor publicate

- 1. Shedding some light in the past COVID-19 pandemic – placental expression of cell biomarkers in negative, vaccinated and positive pregnant women**

J. Clin. Med. 2024, 13, 5546. <https://doi.org/10.3390/jcm13185546>

IF:3 , Q1

Published: 19 September 2024

Constantin Condac ^{1,2,#}, **Ludmila Lozneanu** ^{3,#}, **Daniela Roxana Matasariu** ^{4,5*}, **Alexandra Ursache** ^{4*}, **Iuliana Elena Bujor** ⁴, **Maria Elena Niță** ⁵, **Vasile Lucian Boiculese** ⁶, **Victoria Bîrluțiu** ²

2. Vitamin D Receptor—Interplay in COVID-19-Negative, Infected, and Vaccinated Women during Pregnancy

J. Clin. Med. 2024, 13, 6140. <https://doi.org/10.3390/jcm13206140>

IF: 3, Q 1

Published: 15 October 2024

Constantin Condac ^{1,2,†}, **Ludmila Lozneanu** ^{3,†}, **Daniela Roxana Matasariu** ^{4,5,*}, **Alexandra Ursache** ^{4,*}, **Iuliana Elena Bujor** ⁴, **Maria Elena Niță** ⁵, **Vasile Lucian Boiculese** ⁶, **Mihai Sava** ⁷, **Paula Țăroi** ⁸, **Victoria Bîrluțiu** ²

3. Placental Molecular Expression of Different Pathogenic Vaginal Infections

Int. J. Mol. Sci. 2025, 26 <https://doi.org/10.3390/ijms26072863>

IF: 4.9, Q1

Published: 21 mars 2025

Daniela Roxana Matasariu ^{1,2}, **Constantin Condac** ^{3,4}, **Victoria Bîrluțiu** ⁴, **Ludmila Lozneanu** ^{5,*}, **Iuliana Elena Bujor** ², **Vasile Lucian Boiculese** ⁶, **Mihai Sava** ⁷ and **Alexandra Ursache** ²