

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
“VICTOR BABEȘ” TIMIȘOARA  
FACULTATEA DE MEDICINĂ GENERALĂ  
DEPARTAMENTUL DE OBSTETRICĂ-GINECOLOGIE  
ȘI NEONATOLOGIE**

**TEOFANA OTILIA BIZEREA**



# **TEZĂ DE DOCTORAT**

## **REZUMAT**

**STATUSUL SELENIULUI ȘI PROFILUL  
NOU-NĂSCUTULUI EXPUS LA STRESUL  
OXIDATIV DATORAT TULBURĂRILOR  
HIPERTENSIVE INDUSE DE SARCINĂ**

Conducător Științific  
**PROF. UNIV. DR. CONSTANTIN ILIE**

**Timișoara  
2018**

## CUPRINS

Lista lucrărilor publicate.....	VI
Lista abrevierilor .....	VIII
Indexul Figurilor.....	X
Indexul Tabelelor.....	XII
Mulțumiri.....	XIII
INTRODUCERE .....	XIV

### PARTEA GENERALĂ

ROLUL SELENIULUI ÎN STRESUL OXIDATIV ȘI PATOLOGIIILE NOU-NĂSCUTULUI DIN MAME CU PIH .....	1
1. Stresul Oxidativ .....	1
2. Seleniul în organismul uman .....	7
3. Implicarea seleniului în metabolism și în alte funcții ale organismului .....	13
4. Seleniul în raport cu sănătatea omului. Patologii datorate hipo- și hiperprezenței seleniului în organism .....	15
5. Seleniul, seleno-proteinele și stresul oxidativ.....	25
6. Stresul oxidativ, statusul seleniului și sarcina .....	31
7. Patologii hipertensive în timpul sarcinii .....	33
8. Stresul oxidativ, hipertensiunea indusă de sarcină și patologia neonatală .....	37

## PARTEA SPECIALĂ

1. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII .....	42
1.1. Patologii hipertensive datorate sarcinii. Etiologie. Consecințe neonatale .....	42
1.2. Se-biomarkeri și rolul lor în identificarea statusului seleniului în organism .....	49
2. SCOPUL ȘI OBIECTIVELE STUDIULUI .....	54
3. MATERIALE ȘI METODE .....	56
3.1. Definiții. Concepte .....	56
3.2. Metodologia cercetării științifice .....	60
3.3. Design-ul Studiilor Retrospective .....	62
<i>Studiul Retrospectiv privind complicațiile metabolice ce apar pe termen lung la copiii obezi născuți SGA.....</i>	66
<i>Studiul Retrospectiv privind efectul PIH matern asupra termenului nașterii și asupra creșterii și dezvoltării fătului .....</i>	67
<i>Studiul Retrospectiv privind modificarea profilului hematologic neonatal datorită PIH matern .....</i>	68
<i>Studiul Retrospectiv privind impactul PIH matern, respectiv al SGA neonatal și prematurității nașterii asupra profilului neurologic al nou-născutului .....</i>	71
3.4. Design-ul Studiului Prospectiv .....	73
<i>Protocol de desfășurare a Studiului Prospectiv.....</i>	73
<i>Recoltarea probelor de urină și sânge ombilical.....</i>	75
<i>Metode analitice de determinare a seleniului din probe. Metoda spectrofotometrică UV-Vis de determinare a seleniului prin intermediul anionului triiodură .....</i>	76
<i>Metode de digerare a probelor biologice în vederea determinării seleniului .....</i>	78
3.5. Prelucrarea statistică a datelor .....	79

4. REZULTATE și DISCUȚII. CONTRIBUȚII ORIGINALE .....	80
<i>Studiul Retrospectiv privind complicațiile metabolice ce apar pe termen lung la copiii obezi născuți SGA.....</i>	80
<i>Studiul Retrospectiv privind efectul PIH matern asupra termenului nașterii și asupra creșterii și dezvoltării fătului .....</i>	83
<i>Studiul Retrospectiv privind modificarea profilului hematologic neonatal datorită PIH matern .....</i>	91
<i>Studiul Retrospectiv privind impactul PIH matern, respectiv al SGA neonatal asupra termenului nașterii și profilului neurologic al nou-născutului.....</i>	99
<i>Studiul Prospectiv privind statusul seleniului din ser și urină ca marker de apreciere a influenței PIH matern asupra statutului de SGA și prematurității nou-născuților.....</i>	105
CONCLUZII .....	114
BIBLIOGRAFIE .....	121
ANEXE .....	I

**CUVINTE CHEIE:** Hipertensiune Indusă de Sarcină, Restricție de Creștere Intrauterină, SGA, Prematuritate, Seleniu, Stresul Oxidativ

## INTRODUCERE

În ansamblu, atât greutatea mică la naștere (SGA, Small for Gestational Age), cât și prematuritatea, pot fi considerate ca fiind unii dintre cei mai puternici factori de risc pentru evoluția postnatală a nou-născuților. Restricția de creștere intrauterină (IUGR, Intrauterine Growth Restriction) poate fi cauzată de un număr însemnat de factori fetali, materni sau placentari. Una din cauzele majore ale IUGR o reprezintă hipertensiunea arterială indusă de sarcină (PIH, Pregnancy Induced Hypertension) **[Varga et al, 2017]**.

În acest sens, *prezentul studiu a considerat oportună stabilirea influenței pe care o are patologia hipertensivă maternă asupra creșterii și dezvoltării fetale, precum și asupra vârstei gestaționale.*

Literatura de specialitate abundă în studii ce analizează legătura dintre PIH matern și complicațiile ce apar la copii, la naștere și/ sau pe termen mai lung. Cu toate acestea, mecanismele de producere și evoluție a acestor complicații neonatale, precum și interconexiunea cauză-efect, sunt departe de a fi elucidate, cu atât mai mult cu cât au fost raportate adesea rezultate contradictorii. Din acest motiv, *studiul efectuat și-a propus să examineze modificările profilului hematologic neonatal datorat hipertensiunii induse de sarcină, plecând de la ipoteza inițială că PIH matern are o influență mai mare asupra dezvoltării trombocitopeniei și neutropeniei neonatale decât vârsta gestațională și greutatea la naștere.* De asemenea, în același scop, *studiul propus a evaluat dezvoltarea neurologică a nou-născuților SGA și a nou-născuților prematuri, comparativ cu cea a nou-născuților la termen, având greutate normală în raport cu vârsta gestațională (AGA, Appropriate for Gestational Age).*

Dezvoltarea fetală și supraviețuirea perinatală se bazează pe buna funcționare a unității materno-placento-fetale. O componentă critică ce modifică acest echilibru este stresul oxidativ. Prezența unui stres oxidativ de diverse etiologii poate fi cauza patologiei hipertensive materne, iar restricția de creștere intrauterină și prematuritatea nașterii pot fi consecințe indirecte ale perturbării sistemului de apărare antioxidant. Acesta este și motivul pentru care *prezentul studiu și-a propus în continuare, să determine dacă statusul seleniului din ser și din urină reprezintă un marker precis care să ilustreze influența PIH matern asupra greutății la naștere și vârstei gestaționale a nou-născuților.*

## SCOPUL ȘI OBIECTIVELE STUDIULUI

Studiul doctoral a avut drept scop principal *investigarea rolul seleniului în stresul oxidativ implicat în patologiile hipertensive din timpul sarcinii, precum și în complicațiile ce pot să apară la nou-născuții proveniți din mame cu astfel de patologii. Prin urmare, prezentul studiu și-a propus să examineze nou-născuții supuși stresului oxidativ în perioada intrauterină, în vederea stabilirii unei posibile legături între statusul seleniului la aceștia și incidența unor complicații la naștere.*

## MATERIALE ȘI METODE

Activitatea de cercetare științifică ce face obiectul prezentei lucrări s-a desfășurat, în esență, în cadrul Departamentului de Pediatrie al Universității de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" din Timișoara și al colectivului Secției de Neonatologie a Clinicii de Obstetrică-Ginecologie "Bega" din cadrul Spitalului Universitar Clinic Județean de Urgență "Pius Brînzeu" din Timișoara. De asemenea, au fost studii care s-au derulat la Spitalul Clinic Universitar de Urgență pentru Copii "Louis Țurcanu" din Timișoara, în cadrul Secțiilor de Diabet și boli nutriționale, Endocrinologie și Cardiologie.

Ea a avut la bază cinci studii principale, patru retrospective și unul prospectiv.

1. *Studiu retrospectiv observațional analitico-descriptiv ce a avut drept scop monitorizarea și descrierea complicațiilor de tip metabolic ce apar pe termen lung la copiii obezi cu statut anterior de SGA.*

Studiul, ce a acoperit o perioadă de 5 ani (ian. 2007 - dec. 2011), a fost efectuat la Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii "Louis Țurcanu" din Timișoara, în cadrul Departamentelor de Diabet și boli nutriționale, Endocrinologie și Cardiologie și a monitorizat un număr de 517 pacienți.

2. *Studiu retrospectiv observațional analitico-descriptiv privind efectul PIH matern asupra termenului nașterii și asupra creșterii și dezvoltării fătului.*

Studiul a fost întreprins la Clinica de Obstetrică, Ginecologie și Neonatologie "Bega" a Spitalului Clinic Județean de Urgență Timișoara, a inclus 6108 pacienți și s-a extins pe o perioadă de trei ani (1 ian. 2014 - 31 dec. 2016). Nou-născuții incluși în studiu, au fost împărțiți în opt sub-grupuri, dintre care unul de control (nonPIH-Term-AGA ) și șapte de studiu:

- |                                 |                              |
|---------------------------------|------------------------------|
| 1. nonPIH-Term-AGA (control);   | 5. PIH-Term-AGA (studiu);    |
| 2. nonPIH-Term-SGA (studiu);    | 6. PIH-Term-SGA (studiu);    |
| 3. nonPIH-Preterm-AGA (studiu); | 7. PIH-Preterm-AGA (studiu); |
| 4. nonPIH-Preterm-SGA (studiu); | 8. PIH-Preterm-SGA (studiu). |

3. *Studiu retrospectiv observațional analitico-descriptiv privind modificarea profilului hematologic neonatal datorită PIH matern.*

Studiul a fost efectuat la Clinica de Obstetrică, Ginecologie și Neonatologie a Spitalului Județean de Urgență Timișoara, pe o perioadă de trei ani (1 ian. 2014 - 31 dec. 2016) și a inclus 7478 nou-născuți, admiși la Departamentul de Neonatologie. După aplicarea criteriilor de excludere, din cei 6077 subiecți rămași în studiu, au fost constituite două grupuri de studiu (PIH-AGA și PIH-SGA) și două grupuri de control (NonPIH-AGA și nonPIH-SGA).

4. *Studiu retrospectiv observațional analitico-descriptiv privind efectul PIH matern asupra profilului neurologic al nou-născutului.*

Studiul s-a desfășurat tot în cadrul Clinicii de Obstetrică, Ginecologie și Neonatologie a Spitalului Județean de Urgență Timișoara, de asemenea pe o perioadă de trei ani (1 ian. 2014 - 31 dec. 2016). În acest studiu au fost incluși 340 de nou-născuți. Deoarece studiul și-a propus să aprecieze aspectul neurologic al nou-născuților mici pentru vârsta gestațională comparativ cu nou-născuții prematuri, grupurile de studiu au fost de data aceasta SGA-Term și SGA-Preterm, iar grupurile martor au fost AGA-Term și AGA-Preterm.

*Studiile retrospective observaționale analitico-descriptive privind efectul PIH matern asupra termenului nașterii și dezvoltării fătului, precum și complicațiile de tip metabolic și hematologic ce apar la naștere și în evoluția copilului au avut un caracter transversal (cross-sectional), deoarece au examinat un eșantion din populația de referință (femei însărcinate fără/ cu PIH, internate într-o anumită perioadă de timp; copii AGA/ SGA proveniți din aceste mame) și au determinat prevalența unui anumit factor de risc (PIH, nașterea prematură, statutul de SGA) în rândul acestei populații.*

*Ele au fost studii de tip cohortă pentru că au presupus existența unui grup martor (mame fără PIH, copii cu statut de AGA, copii născuți la termen) și a unuia sau mai multor grupuri de studiu (mame cu PIH, copii cu statut de SGA, copii născuți prematur). Între aceste grupuri selecționate dintre pacienții Secției de Neonatologie a Clinicii de Obstetrică-Ginecologie "Bega" din cadrul Spitalului Universitar Clinic Județean de Urgență "Pius Brînzeu" din Timișoara*

au fost stabilite corelații semnificative ce au putut fi transpuse în concluzii pertinente.

*Studiul retrospectiv observațional analitico-descriptiv privind complicațiile de tip neurologic ce apar la naștere și în evoluția copilului a fost de tip case-control deoarece fiecărui sub-grup de studiu (nou-născuți SGA la termen și prematuri) i s-a atribuit un sub-grup martor echinumeric (nou-născuți AGA la termen și prematuri).*

*5. Studiu prospectiv analitic experimental de tip case-control privind statusul seleniului din sângele ombilical și urina nou-născuților și corelația acestuia cu patologia hipertensivă a mamei, vârsta gestațională și greutatea la naștere a copilului.*

Studiul prospectiv a inclus 72 nou-născuți admiși la Clinica "Bega" de Obstetrică, Ginecologie și Neonatologie a Spitalului Universitar de Urgență "Pius Brinzeu" din Timișoara, Secția de Neonatologie și Prematuri, în perioada 1 ian. 2017 - 31 dec. 2017.

Influența stresului oxidativ (SO) intrauterin asupra greutății la naștere a fost urmărită prin compararea concentrațiilor seleniului din sângele și urina nou-născuților din grupul de studiu NonPIH-SGA (S1) și grupul de control NonPIH-AGA (C). Modul în care SO indus de hipertensiunea maternă se reflectă în statusul seleniului din sângele și urina copiilor născuți normali în raport cu vârsta gestațională a fost apreciat comparând concentrațiile serice și urinare ale seleniului în cazul celui de-al doilea grup de studiu, PIH-AGA (S2) cu cele ale grupului martor, NonPIH-AGA (C). Gradul în care SO indus de hipertensiunea maternă se reflectă în statusul seleniului din sângele și urina nou-născuților mici pentru vârsta gestațională a fost urmărit prin compararea concentrației serice și urinare a seleniului la nou-născuții SGA proveniți din mame hipertensive, PIH-SGA (grup de studiu S3) și normotensive, NonPIH-SGA (grup de studiu S1).

Confirmarea faptului că nivelul seleniului din sângele ombilical (SeCO) și urina (SeU) nou-născuților reprezintă un bun marker al stresului oxidativ intrauterin datorat hipertensiunii materne, a fost obținută comparând valorile SeCO și SeU la nou-născuții normali proveniți din mame hipertensive, PIH-AGA (grup de studiu S2) cu valorile SeCO și SeU la nou-născuții mici din mame hipertensive, PIH-SGA (grup de studiu S3).



Pentru toate studiile efectuate, *Comitetele de etică, atât cel al Spitalului Județean de Urgență din Timișoara, cât și cel al Spitalului Clinic de Urgență pentru Copii „Louis Țurcanu”, au aprobat utilizarea anonimizată a datelor pacientului.* Toate fișierele pacienților au fost analizate ca seturi anonime de date limitate cuprinse în înregistrările arhivate ale Departamentelor în cadrul cărora s-a desfășurat activitatea de cercetare. A fost creat un registru electronic cu datele pacientului anonimizate, prin cercetarea fiecărei înregistrări a pacientului din fișele medicale.

Includerea subiecților în studiile retrospective s-a referit la pacienții cu vârsta cuprinsă între 0 și 28 zile pentru cei cuprinși în studiile desfășurate în cadrul Departamentului de Neonatologie, respectiv 0 și 18 ani pentru pacienții incluși în studiul efectuat în Departamentul de Pediatrie. Pentru fiecare dintre studii s-au aplicat criterii de excludere specifice, în conformitate cu scopul urmărit.

Procesarea statistică a datelor s-a făcut utilizând programul XLSTAT Microsoft Excel®. A fost efectuată o analiză de regresie și corelare a datelor pentru a determina gradul de corelare, precum și relațiile de cauzalitate dintre variabilele studiate și pentru a stabili dacă rezultatele obținute pot fi validate în termeni de semnificație statistică.

## **REZULTATE ȘI DISCUȚII. CONTRIBUȚII ORIGINALE**

### **Rezultate**

Referitor la influența greutateii la naștere asupra riscului de apariție a sindromului metabolic, *s-a observat că procentul de copii care au dezvoltat sindrom metabolic (MetS), din ambele categorii, atât cei născuți normali (AGA), cât și cei născuți mici pentru vârsta gestațională (SGA), crește cu vârsta.* Creșterea cea mai importantă s-a remarcat în rândul adolescenților, la copiii născuți mici pentru vârsta gestațională (26,3% SGA comparativ cu 15,7% AGA).

Un obiectiv important al studiului a fost evaluarea efectului PIH matern asupra vârstei gestaționale, în corelație cu creșterea și dezvoltarea fătului. Incidența PIH matern la nou-născuții incluși în studiu a fost de 0,94%, criteriile de încadrare în categoria SGA au fost îndeplinite de 2,7% dintre pacienți, iar un procent de 4,7% din totalul pacienților au fost născuți prematur.

*Incidența nașterilor premature a fost semnificativ mai mare la nou-născuții proveniți din mame cu PIH față de cei din mame fără PIH (62,1% față de 4,2%).*

*SGA a fost mai frecvent în grupurile de studiu cu naștere prematură, comparativ cu nou-născuții la termen: 41,6% pentru sub-grupul de studiu PIH-Preterm și 24,5% pentru nonPIH-Preterm, comparativ cu 13,6% pentru sub-grupul de studiu PIH-Term și 1,5% pentru nonPIH-Term. De asemenea, s-a observat o prevalență semnificativ mai mare a SGA în sub-grupul PIH-Term, comparativ cu sub-grupul nonPIH-Term (13,6% față de 1,5%).*

În continuare, s-a dorit să se stabilească în ce măsură, dezvoltarea din perioada intrauterină afectată de patologia hipertensivă a mamei este corelată cu patologiile neonatale de tip hematologic.

În privința profilului hematologic al nou-născuților, s-a constatat că la grupul PIH-AGA numărul mediu al neutrofilelor  $[(9,29 \pm 6,04) \cdot 10^9/L]$  reprezintă 71,5% din valoarea normală a acestui parametru, înregistrată la grupul de control nonPIH-AGA  $[(12,99 \pm 4,55) \cdot 10^9/L]$ , iar la grupul PIH-SGA valoarea medie a neutrofilelor  $[(7,49 \pm 5,42) \cdot 10^9/L]$  este doar 62,2% din valoarea înregistrată de grupul de control nonPIH-SGA  $[(12,04 \pm 4,71) \cdot 10^9/L]$ .

După cum era de așteptat, *nou-născuții PIH-SGA au fost cei mai afectați de anomalii hematologice* (33,3% neutropenici și 27,7% nou-născuți trombocitopenici), *urmați de nou-născuții PIH-AGA, care au înregistrat și ei o prevalență ridicată a modificărilor hematologice* (22,5% pacienți cu trombocitopenie). În comparație cu cele două grupuri de studiu reprezentate de nou-născuții afectați de PIH matern, grupul de control nonPIH-SGA a arătat procente mult mai mici, atât ale neutropeniei, cât și ale trombocitopeniei (2,63% și, respectiv, 1,97%), în timp ce grupul martor nonPIH-AGA nu a prezentat modificări hematologice.

Analiza de regresie și corelație a fost efectuată pentru a stabili gradul de interdependență dintre variabilele studiate. *S-a constatat o corelație negativă între PIH matern și modificările profilului hematologic al sugarului*, atât în ceea ce privește neutropenia neonatală, cât și trombocitopenia ( $p < 0,001$  și respectiv  $p < 0,05$ ).

Stabilirea profilului neurologic al nou-născuților s-a realizat prin evaluarea incidenței, factorilor de risc și mecanismelor de bază ale hipoxiei ischemice encefalopatie (HIE, Hypoxic Ischemic Encephalopathy) și

hemoragiei intraventriculare (IVH, IntraVentricular Hemorrhage) la acești nou-născuți.

S-a observat că, *indiferent de greutatea la naștere, nou-născuții prematuri au o incidență mai mare a HIE și a IVH decât sugarii născuți la termen* (26,1% SGA Preterm și 11,5% AGA Preterm versus 11,8% SGA Term și 0% AGA Term, respectiv 20,3% SGA Preterm și 15,9% AGA Preterm versus 7,9% SGA Term și 0% AGA Term).

*În ceea ce privește variația SeCO (concentrația seleniului din sângele cordonului ombilical), respectiv SeU (concentrația seleniului din urina nou-născutului), în funcție de greutatea la naștere (GN), la copiii proveniți din mame normotensive, s-a observat că există o corelație pozitivă redusă, ilustrată de regresia simplă ( $R^2 = 13,3\%$  pentru SeCO și, respectiv,  $24,5\%$  pentru SeU), dar totuși semnificativă din punct de vedere statistic ( $p_{\text{Stat}} = 0,0016$  în cazul SeCO și  $9,76 \cdot 10^{-6}$  în cazul SeU).*

*Referitor la variația SeCO, respectiv SeU, în funcție de tensiunea maternă ( $T_{\text{mat}}$ ), la nou-născuții AGA, s-a remarcat că există o corelație negativă redusă, ilustrată de regresia simplă ( $R^2 = 7,1\%$  în cazul SeCO și, respectiv,  $7,3\%$  în cazul SeU), care, cu toate acestea, este semnificativă din punct de vedere statistic ( $p_{\text{Stat}} = 0,0045$  pentru SeCO și  $0,0040$  pentru SeU).*

*Urmărind variația SeCO, respectiv SeU cu tensiunea maternă, la nou-născuții SGA, se putut observa o corelație negativă mai pronunțată ( $R^2 = 25,3\%$  în cazul SeCO și, respectiv,  $26,6\%$  în cazul SeU). De asemenea, regresia simplă arată că diferența dintre valori este statistic semnificativă ( $p_{\text{Stat}} = 0,0033$  pentru SeCO și  $0,0025$  pentru SeU).*

*Analizând variația SeCO și SeU cu greutatea nou-născuților, în cazul mamelor hipertensive s-a constatat faptul că regresia simplă dă o corelație pozitivă între valori ( $R^2 = 15,0\%$  în cazul SeCO și, respectiv,  $17,8\%$  în cazul SeU) care este semnificativă din punct de vedere statistic ( $p_{\text{Stat}} = 0,0008$  pentru SeCO și  $0,0002$  pentru SeU).*

## Discuții

Raportându-ne la cele două cercetări importante menționate în literatură, care urmăresc complicațiile pe termen scurt și lung ce pot să apară la copiii obezi, și anume: Hagenau - studiu retrospectiv [Meas et al, 2008; Levy-Marchal et al, 2010] și CASyMIR - studiu prospectiv în desfășurare

**[CRNH Rhône-Alpes]**, putem afirma că rezultatele obținute de noi sunt destul de apropiate.

Prevalența nașterilor premature a fost mai mare la nou-născuții cu PIH matern, iar statutul de născut SGA a fost mai frecvent la sugarii proveniți din mame cu PIH, ceea ce este în concordanță cu literatura de specialitate **[Xiong et al, 2002; Madan et al, 2010]**.

*Așa cum era de așteptat, cei mai afectați de hipertensiunea maternă indusă de sarcină sunt nou-născuții aparținând sub-grupului de studiu PIH-Preterm-SGA. Este de presupus că, în cazul acestor nou-născuți, peste patologia hipertensivă maternă, se suprapun și alte cauze ce determină o dezvoltare intrauterină deosebit de precară. Din acest motiv, copiii s-au născut prematur și au avut o greutate mică la naștere, chiar și raportat la vârsta gestațională, ce a fost și ea scăzută.*

"Modelul ischemic" propus de mai mulți autori susține că PIH matern modifică mediul intrauterin prin reducerea fluxului sanguin către placentă și, în cele din urmă, către făt, ceea ce duce la afectarea ulterioară a producției de măduvă osoasă fetală a liniei mieloide **[McPherson and Juul, 2004; Backes et al, 2011; Lin et al, 2015]**. Alte studii consideră că neutropenia și trombocitopenia asociate cu SGA sunt mai direct legate de restricția de creștere a fătului, cu diverse etiologii, decât de hipertensiunea maternă **[Christensen et al, 2015]**.

*Studiul actual evidențiază faptul că nou-născuții mici pentru vârsta gestațională ai mamelor cu patologie hipertensivă, PIH-SGA, au prezentat cea mai mare prevalență a neutropeniei și trombocitopeniei neonatale din toate grupele studiate (33,3%, respectiv 27,7%). Faptele menționate sunt validate statistic prin valorile  $p < 0,05$  și prin valorile mai mari ale  $t_{\text{stat}}$  comparativ cu  $t_{\text{crit}}$ .*

Se consideră că hipoxia ischemică encefalopatică (HIE) și hemoragia intraventriculară (IVH) sunt interdependente patologice **[Hill and Volpe, 1981; Barnes, 2001; Douglas-Escobar and Weiss, 2013]**. Această ipoteză este susținută și de rezultatele studiului actual care operează cu valori și modele similare celor menționate în literatura medicală, referitoare la incidența și distribuția procentuală a HIE și IVH.

În timp ce datele din literatură susțin o corelație puternică între nașterea prematură și HIE **[Logitharajah et al, 2009; Gopagondanahalli et al, 2016; Vesoulis and Mathur, 2017]**, legătura dintre nașterea înainte de termen și IVH

continuă să fie intens dezbătută **[Papile et al, 1978; Volpe, 1989; Kratzer et al, 2014]**.

*În acest studiu, atât HIE, cât și IVH, au avut o incidență mai mare în rândul nou-născuților prematuri, indiferent de greutatea la naștere, sugerând că mecanismul potențial are la bază o leziune hipoxică ce afectează structurile cerebrale imature.*

*Studiul efectuat remacă faptul că stresul oxidativ datorat PIH-ului matern, suprapus peste stresul oxidativ de altă natură, determină o dezvoltare intrauterină extrem de precară a fătului și crește mult riscul nașterilor SGA printre mamele cu PIH.*

Scăderea concentrațiilor seleniului ombilical și urinar la copiii cu statut SGA proveniți din mame cu PIH față de copiii AGA proveniți din mame cu PIH (36,5% pentru SeCO și 44,0% pentru SeU) relevă faptul că *hipertensiunea maternă generează un stres oxidativ puternic ce nu mai poate fi contracarat de către făt.*

Copiii născuți SGA din mame cu PIH au un grad de excreție a Se prin urină cu o valoare medie semnificativ mai scăzută (52,8%) față de copiii născuți normali din mame cu PIH (59,2%), ceea ce denotă faptul că, *deși fătul încearcă să păstreze rezervele de seleniu în organism pentru a lupta cu stresul oxidativ datorat PIH-ului matern, nu reușește întotdeauna să-l contracareze și să se dezvolte normal.*

## CONCLUZII

1. Incidența hipertensiunii induse de sarcina maternă, PIH (Pregnancy Induced Hypertension), estimată cu ajutorul acestui studiu, a fost de 0,94 %, semnificativ mai scăzută în comparație cu valorile citate în literatura medicală: 7,8% **[Sajith et al, 2014]**, 10 % **[ACOG, 2013]**, 19,4 % **[Muti et al, 2015]**.

2. Incidența nașterilor premature a fost mult mai mare la nou-născuții proveniți din mame cu PIH decât la cei din mame fără PIH (62,1% față de 4,2%).

3. Statutul de născut mic pentru vârsta gestațională, SGA (Small for Gestational Age) a fost mai frecvent la nou-născuții proveniți din mame cu PIH, ceea ce este în concordanță cu literatura de specialitate **[Xiong et al, 2002; Madan et al, 2010]**.

4. Statutul de SGA a fost, de asemenea, mai frecvent în grupurile de studiu cu naștere prematură, comparativ cu nou-născuții la termen.

6. SGA și prematuritatea sunt legate una de cealaltă și mai răspândite printre nou-născuții cu PIH matern. Se poate concluziona că PIH maternal exercită un efect negativ asupra creșterii și dezvoltării fătului.

7. Ponderea copiilor care au dezvoltat sindrom metabolic (MetS), din ambele categorii, atât cei născuți AGA, cât și cei născuți SGA, crește cu vârsta, și este mai importantă la copiii născuți mici pentru vârsta gestațională.

9. În privința profilului hematologic, se poate afirma că PIH maternal are un efect semnificativ asupra apariției neutropeniei neonatale și a trombocitopeniei, atât la nou-născuții AGA, cât și la cei SGA. Nașterea prematură și SGA la nou-născuții mamelor cu PIH sunt factori care contribuie la creșterea incidenței și severității acestor modificări hematologice.

10. Referitor la profilul neurologic, s-a constatat că, indiferent de greutatea la naștere, nou-născuții prematuri au o incidență mai mare a HIE (Hypoxic Ischemic Encephalopathy) și IVH (IntraVentricular Hemorrhage) decât sugarii născuți la termen. În plus, SGA la nou-născuții mamelor cu PIH reprezintă un factor de risc suplimentar care poate agrava severitatea afecțiunilor neurologice.

11. În privința Influenței stresului oxidativ intrauterin asupra dezvoltării fetale, se remarcă o relație direct proporțională între greutatea la naștere și concentrațiile seleniului din sângele ombilical (SeCO) și din urina nou-născuților (SeU) proveniți din mame normo-tensive.

12. Concentrațiile SeCO și SeU relevă influența puternică a stresului oxidativ datorat PIH-ului matern printre copiii născuți cu statut SGA față de cei născuți AGA.

13. Rezultatele obținute relevă faptul că SeCO și SeU pot fi folosiți ca markeri ai stresului oxidativ datorat hipertensiunii indusă de sarcină, chiar și în cazul copiilor născuți normali.

## BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Varga, P., Berecz, B., Gasparics, A., Dombi, Z., Varga, S., Jeager, J., Magyar, Z., Rigó Jr, J., Joó, J.G., Kornya, L., Morbidity and mortality trends in very-very low birth weight premature infants in light of recent changes in obstetric care, *Eur J Obst Gyn Rep Biol*, **2017**, 211: 134-139;
2. Meas, T., Deghmoun, S., Armoogum, P., Alberti, C., Marchal, C.L.. Consequences of being born small for gestational age on body composition: an 8-year follow-up study, *J Clin Endocrinol Metab*, **2008**, 93(10): 3804-3809;
3. Levy-Marchal, C., Arslanian, S., Cutfield, W., Sinaiko, A., Druet, C., Marcovecchio, M.L., Chiarelli, F, Insulin resistance in children: consensus, perspective, and future directions, *J Clin Endocrinol Metab*, **2010**, 95(12), 5189-5198; DOI: 10.1210/ jc.2010-1047, PMID: 20829185, PMCID: PMC3206517;
4. CRNH Rhône-Alpes, Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes, [www.crn-rhone-alpes.fr](http://www.crn-rhone-alpes.fr);
5. Xiong, X., Demianczuk, N.N., Saunders, L.D., Wang, F.L., Fraser, W.D., Impact of Preeclampsia and Gestational Hypertension on Birth Weight by Gestational Age, *Am J Epidemiol*, **2002**, 155(3): 203-209, PMID: 11821244;
6. Madan, J., Chen, M., Goodman, E., Davis, J., Allan, W., Dammann, O., Maternal obesity, gestational hypertension, and preterm delivery, *J Matern Fetal Neonatal Med*, **2010**, 23(1): 82-88, DOI: 10.3109/14767050903258738, PMID: 19903115;
7. McPherson, R.J. and Juul, S., Patterns of Thrombocytosis and Thrombocytopenia in Hospitalized Neonates, *J Perinatol*, **2004**, 25(3):166-172, PMID: 15578031, DOI: 10.1038/sj.jp.7211230;
8. Backes, C.H., Markham, K., Moorehead, P., Cordero, L., Nankervis, C.A., Giannone, P.J., Maternal Preeclampsia and Neonatal Outcomes, *J Pregnancy*, **2011**, 2011: 214365, PMID: 21547086, doi: 10.1155/2011/ 214365;
9. Lin, S., Leonard, D., Co, M.A., Mukhopadhyay, D., Giri, B., Perger, L., Beeram, M.R., Kuehl, T.J., Uddin, M.N., Pre-eclampsia has an adverse impact on maternal and fetal health, *Transl Res*, **2015**, 165(4): 449-63;
10. Christensen, R.D., Yoder, B.A., Baer, V.L., Snow, G.L., Butler, A., Early-Onset Neutropenia in Small-for-Gestational-Age Infants, *Pediatrics*, **2015**, 136(5): E1259-E1267, DOI: 10.1542/peds.2015-1638, PMID: 26459642;
11. Hill, A. and Volpe, J.J., Seizures, hypoxic-ischemic brain injury, and intraventricular hemorrhage in the newborn, *Ann Neurology*, **1981**, 10(2): 109-121;
12. Barnes, P.D., Neuroimaging and the timing of fetal and neonatal brain injury, *J Perinatol*, **2001**, 21(1): 44-60;
13. Douglas-Escobar, M. and Weiss, M., Biomarkers of Brain Injury in the Premature Infant, *Frontiers in Neurology*, **2013**, 3: 185, DOI: 10.3389/fneur.2012.00185, PMID: 23346073, PMCID: PMC3551194;

14. Logitharajah, P., Rutherford, M.A., Cowan, F.M., Hypoxic-ischemic encephalopathy in preterm infants: antecedent factors, brain imaging, and outcome, *Pediatr Res*, **2009**, 66(2): 222-229;
15. Gopagondanahalli, K.R., Li, J., Fahey, M.C., Hunt, R.W., Jenkin, G., Miller, S.L., Malhotra, A., Preterm Hypoxic-Ischemic Encephalopathy, *Frontiers in Pediatrics*, **2016**, 4: 114, DOI: 10.3389/fped.2016.00114, PMID: 27812521, PMCID: PMC5071348;
16. Vesoulis, Z.A. and Mathur, A.M., Cerebral Autoregulation, Brain Injury, and the Transitioning Premature Infant, *Front Pediatr*, **2017**, 5(64); PMCID: PMC5377300, DOI:10.3389/fped.2017.00064;
17. Papile, L-A., Burstein, J., Burstein, R., Koffler, H., Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: A study of infants with birth weights less than 1,500 gm, *J Pediatr*, **1978**, 92(4): 529-534;
18. Volpe, J.J., Intraventricular hemorrhage in the premature infant - current concepts, Part I, *Ann Neurology*, **1989**, 25(1): 3-11, DOI: 10.1002/ana.410250103;
19. Kratzer, I., Chip, S., Vexler, Z.S., Barrier mechanisms in neonatal stroke, *Front Neurosci*, **2014**, 8:359.



**“VICTOR BABEȘ” UNIVERSITY OF MEDICINE AND  
PHARMACY, TIMIȘOARA  
FACULTY OF MEDICINE  
DEPARTMENT OF OBSTETRICS-GYNECOLOGY AND  
NEONATOLOGY**

**TEOFANA OTILIA BIZEREA**



# **DOCTORAL THESIS**

## **SUMMARY**

**THE SELENIUM STATUS AND THE PROFILE OF  
THE NEWBORN EXPOSED TO OXIDATIVE  
STRESS DUE TO PREGNANCY-INDUCED  
HYPERTENSIVE DISORDERS**

Doctoral Supervisor  
**UNIVERSITY PROFESSOR PHD.  
CONSTANTIN ILIE**

**Timișoara  
2018**

## CONTENT

List of published works .....	VI
List of abbreviations.....	VIII
Index of figures.....	X
Index of tables .....	XII
Acknowledgements .....	XIII
INTRODUCTION.....	XIV

### GENERAL OVERVIEW PART

THE ROLE OF SELENIUM IN OXIDATIVE STRESS AND THE PATHOLOGIES OF NEWBORNS FROM MOTHERS WITH PREGNANCY-INDUCED HYPERTENSION (PIH) .....	1
1. The oxidative stress.....	1
2. Selenium in the human body.....	7
3. Influence of the selenium in metabolism and other functions of the body .....	13
4. Selenium in relation to human health. Pathologies due to hypo- and hyper-presence of selenium in the body .....	15
5. Selenium, seleno-proteins and oxidative stress .....	25
6. The oxidative stress, the selenium status and the pregnancy .....	31
7. Hypertensive pathologies during pregnancy .....	33
8. Oxidative stress, pregnancy-induced hypertension and neonatal pathology .....	37

## SPECIAL PART

1. CURRENT STATE OF KNOWLEDGE .....	42
1.1. Hypertensive pathologies induced by pregnancy. Etiology. Neonatal consequences .....	42
1.2. Se-biomarkers and their role in identifying the status of selenium in the body.....	49
2. THE GOAL AND THE OBJECTIVES OF THE STUDY .....	54
3. MATERIALS AND METHODS .....	56
3.1. Definitions. Concepts .....	56
3.2. Methodology of scientific research .....	60
3.3. The design of retrospective studies.....	62
<i>Retrospective study on long-term metabolic complications in         SGA (small for gestational age) - born obese children .....</i>	66
<i>Retrospective study on the effect of maternal pregnancy-         induced hypertension (PIH) on birth term and fetal growth and         development.....</i>	67
<i>Retrospective study on changing the neonatal hematology         profile due to maternal pregnancy-induced hypertension (PIH).....</i>	68
<i>Retrospective study on the impact of maternal pregnancy-         induced hypertension (PIH), respectively of neonatal SGA         (newborn small for gestational age) and prematurity on         neonatal neurological profile .....</i>	71
3.4. The design of the prospective study.....	73
<i>Prospective study implementation protocol.....</i>	73
<i>Collection of urine and umbilical cord blood samples.....</i>	75
<i>Analytical methods for selenium determination in samples. The         spectrophotometric UV-Vis method for determination of         selenium with the triiodide anion .....</i>	76
<i>Methods of handling the biological samples for the         determination of selenium.....</i>	78
3.5. Statistical data processing .....	79

4. RESULTS AND DISCUSSIONS. ORIGINAL CONTRIBUTIONS .....	80
<i>Retrospective study on long-term metabolic complications in SGA (small for gestational age) - born obese children .....</i>	80
<i>Retrospective study on the effect of maternal pregnancy-induced hypertension (PIH) on the birth term and the fetal growth and development.....</i>	83
<i>Retrospective study on changing the neonatal hematology profile due to maternal pregnancy-induced hypertension (PIH).....</i>	91
<i>Retrospective study on the impact of maternal pregnancy-induced hypertension (PIH) and neonatal SGA (newborn small for gestational age) status on the birth term and the neurological profile of the newborn .....</i>	99
<i>Prospective study on serum and urine selenium status as a marker for assessing the influence of maternal pregnancy-induced hypertension (PIH) on the status of SGA (newborn small for gestational age) and prematurity of newborns .....</i>	105
CONCLUSIONS .....	114
BIBLIOGRAPHY .....	121
ANNEXES .....	I

**KEY WORDS:** Pregnancy-Induced Hypertension, Intrauterine Growth Restriction, SGA, Prematurity, Selenium, Oxidative Stress

## INTRODUCTION

Overall, both small birth weight (SGA, Small for Gestational Age) and the premature birth can be considered as some of the most significant risk factors for postnatal development of newborns. The intrauterine growth restriction (IGR) may be caused by a significant number of fetal, maternal or placental factors. One of the major causes of intrauterine growth restriction (IGR) is the pregnancy induced hypertension (PIH) [*Varga et al., 2017*].

In this respect, this study considered appropriate to determine the influence of maternal hypertensive pathology on fetal growth and development as well as on the gestational age.

The specialized literature comprises many research studies that examine the relationship between the maternal pregnancy induced hypertension (PIH) and the complications occurring in children at birth and / or on longer term. However, the mechanisms of occurrence and evolution of these neonatal complications, as well as the cause-effect interconnection, are far from being elucidated, especially as contradictory results have often been reported. For this reason, the performed study proposed to examine the changes in neonatal haematological profile caused by pregnancy-induced hypertension, starting from the initial hypothesis that the maternal pregnancy induced hypertension (PIH) has a greater influence on the development of neonatal thrombocytopenia and neutropenia than gestational age and birth weight. Also, for the same purpose, the proposed research study assessed the neurological development of small for gestational age (SGA) newborns and premature newborns, compared to normal term, appropriate for gestational age (AGA) newborn babies.

The fetal development and perinatal survival are based on the proper functioning of the maternal-placental-fetal unit. A critical component that alters this balance is the oxidative stress. The presence of oxidative stress of various etiologies may be the cause of maternal hypertensive pathology, and the restriction of intrauterine growth and prematurity of birth may be indirect consequences of the disruption of the antioxidant defense system. This is why this study has continued to determine whether the selenium state in serum and urine is a clear marker, in order to illustrate the influence of maternal

pregnancy induced hypertension (PIH) on birth weight and gestational age of newborns.

## **PURPOSE AND OBJECTIVES OF THE STUDY**

The main purpose of the doctoral study was to investigate the role of selenium in the oxidative stress involved in hypertensive pathologies during pregnancy, as well as in the complications that may occur in newborns from mothers with such pathologies. Therefore, this study aims to examine newborn babies subjected to intrauterine oxidative stress in order to establish a possible connection between the status of selenium in their case and the incidence of complications at birth.

## **MATERIALS AND METHODS**

The scientific research activity covered by this study was conducted in the Department of Pediatrics at the "Victor Babeș" University of Medicine and Pharmacy in Timișoara and in the Neonatology Section of the "Bega" Obstetrics and Gynecology Clinic from "Pius Brînzeu" Timiș County Clinical Emergency Hospital in Timișoara. Also, there have been studies that have been carried out at the "Louis Țurcanu" University Emergency Clinic Hospital for Children in Timișoara, in Diabetes and Nutritional Diseases, Endocrinology and Cardiology departments.

It was based on five main studies, four retrospective and one prospective study.

1. An analytical-descriptive observational retrospective study aimed at monitoring and describing long-term metabolic complications in obese children with prior small for gestational age (SGA) status.

The study, which covered a 5-year period (January 2007 - December 2011), was conducted at "Louis Țurcanu" University Emergency Clinic Hospital for Children in Timișoara, in Diabetes and Nutritional Diseases, Endocrinology and Cardiology departments and monitored a number of 517 patients.

2. An analytical-descriptive observational retrospective study on the effect of maternal pregnancy induced hypertension (PIH) on the term of birth and on the growth and development of the fetus.

The study was conducted at the "Bega" Obstetrics, Gynecology and Neonatology Clinic of Timișoara County Clinical Emergency Hospital, included

6,108 patients and was extended over a period of three years (1-st January 2014 - 31 December 2016). The newborns included in the study were divided into eight sub-groups, one of which was a control sub-group (non- pregnancy induced hypertension (PIH) – Term - appropriate for gestational age (AGA)) and seven study groups:

- |                                |                             |
|--------------------------------|-----------------------------|
| 1. nonPIH-Term-AGA (control);  | 5. PIH-Term-AGA (study);    |
| 2. nonPIH-Term-SGA (study);    | 6. PIH-Term-SGA (study);    |
| 3. nonPIH-Preterm-AGA (study); | 7. PIH-Preterm-AGA (study); |
| 4. nonPIH-Preterm-SGA (study); | 8. PIH-Preterm-SGA (study). |

3. Analytical and descriptive observational retrospective study on the modification of the neonatal haematological profile due to maternal pregnancy induced hypertension (PIH).

The study was conducted at the Clinic of Obstetrics, Gynecology and Neonatology of Timișoara County Clinical Emergency Hospital for a period of three years (1-st January 2014 - 31 December 2016) and included 7478 newborns admitted in the Neonatology Department. After applying the exclusion criteria, two study groups (pregnancy induced hypertension (PIH)- appropriate for gestational age (AGA) and pregnancy induced hypertension (PIH)- small for gestational age (SGA)) and two control groups (non - pregnancy induced hypertension (PIH) - appropriate for gestational age (AGA) and non pregnancy induced hypertension (PIH)- small for gestational age (SGA)) were established from the 6077 subjects remained to be studied.

4. Analytical-descriptive observational retrospective study on the effect of maternal pregnancy induced hypertension (PIH) on the neonatal neurological profile.

The study was also conducted at the Clinic of Obstetrics, Gynecology and Neonatology of Timișoara County Clinical Emergency Hospital, also for a period of three years (1 January 2014 - 31 December 2016). 340 newborns were included in this study. Because the study aimed to assess the neurological appearance of small for gestational age newborns compared to preterm newborns, the study groups were this time small for gestational age (SGA)-Term and small for gestational age (SGA)-Preterm, and the control groups were appropriate for gestational age (AGA)-Term and appropriate for gestational age (AGA)-Preterm.

The retrospective analytical-descriptive retrospective studies of the maternal pregnancy induced hypertension (PIH) effect on the term of birth and development of the fetus as well as the metabolic and haematological complications occurring at childbirth and in the development of the child had a cross-sectional nature, because a sample of the reference population has been examined (pregnant women without / with pregnancy induced hypertension (PIH) admitted for a certain period of time; appropriate for gestational age (AGA) / small for gestational age (SGA) children from these mothers) and the prevalence of a certain risk (pregnancy induced hypertension (PIH), premature birth, small for gestational age (SGA) status) has been detected in this population.

These were cohort studies because they were based on the existence of a control group (mothers without pregnancy induced hypertension (PIH), children with appropriate for gestational age (AGA) status, preterm born babies) and one or more study groups (mothers with pregnancy induced hypertension (PIH), children with small for gestational age (SGA) status, preterm born babies). Among these groups selected from the patients of the Neonatology Department of "Bega" Obstetrics and Gynecology Clinic in "Pius Brinzeu" University Clinical Emergency Hospital of Timișoara were established significant correlations that could be transformed into pertinent conclusions.

The retrospective analytic-descriptive retrospective study on neurological complications occurring in childbirth and child development was a case-control study, because each sub-study group (on term and pre-term small for gestational age (SGA) newborns) was assigned an equinumerical sub-group (on term and pre-term appropriate for gestational age (AGA) newborns).

5. Prospective case-control analytical prospective study on the status of selenium in umbilical cord blood and urine of newborns and its correlation with maternal hypertensive pathology, gestational age and birth weight of the child

The prospective study included 72 newborns admitted to the "Bega" Obstetrics, Gynecology and Neonatology Clinic of "Pius Brinzeu" University Emergency Hospital in Timișoara, Neonatology and Premature Department, from 1 January 2017 to 31 December 2017.

The influence of intrauterine oxidative stress (OS) on birth weight was monitored by comparing selenium concentrations in the blood and urine of newborns of the non-pregnancy induced hypertension (PIH) small for



gestational age (SGA) (S1) study group and the non pregnancy induced hypertension (PIH) - appropriate for gestational age (AGA) (C) control group. The way in which oxidative stress (OS) induced by maternal hypertension is reflected in the status of selenium in the blood and urine of normal born infants, related to gestational age was assessed by comparing serum and urine concentrations of selenium in the second study group, pregnancy induced hypertension (PIH) - appropriate for gestational age (AGA) (S2) with those of the control group - non pregnancy induced hypertension (PIH) - appropriate for gestational age (AGA)(C). The degree to which the oxidative stress (OS) induced by maternal hypertension is reflected in the status of selenium in the blood and urine of small for gestational age newborns was monitored by comparing the selenium concentration in the serum and urine in small for gestational age (SGA) newborns from hypertensive mothers, pregnancy induced hypertension (PIH) small for gestational age (SGA) study S3) and normotensive mothers, nonpregnancy induced hypertension (PIH) small for gestational age (SGA) (study group S1).

The confirmation that the selenium concentration in the umbilical blood (SeCO) and urine (SeU) of the newborns is a good marker of intrauterine oxidative stress caused by maternal hypertension was obtained by comparing the values of the selenium concentration in the umbilical blood (SeCO) and urine (SeU) in normal newborns from hypertensive mothers, pregnancy induced hypertension (PIH) - appropriate for gestational age (AGA)(S2 study group) with the values of the selenium concentration in the umbilical blood (SeCO) and urine (SeU) in newborns from hypertensive mothers, pregnancy induced hypertension (PIH) small for gestational age (SGA)(study group S3).

For all the studies conducted, the Ethics Committees of Timișoara County Emergency Hospital and the "Louis Țurcanu" Emergency Hospital for Children approved the anonymized use of patient data. All patient files were analyzed as limited anonymous data sets contained in the archived records of the departments in which the research was conducted. An electronic registry with anonymized patient data was created by analysing each patient's records from the medical sheets.

The inclusion of subjects in the retrospective studies referred to patients aged 0 to 28 days included in the Neonatology Department, respectively 0-18 years in patients included in the study in the

Pediatric Department. For each of the studies, specific exclusion criteria were applied in line with the pursued purpose.

The statistical data processing was done using the Microsoft Excel® XLSTAT program. A regression and data correlation analysis was performed to determine the degree of correlation as well as the causal relationships between the studied variables and to determine whether the results obtained can be validated in terms of statistical significance.

## **RESULTS AND DISCUSSIONS.**

### **ORIGINAL CONTRIBUTIONS**

#### **Results**

Regarding the influence of birth weight on the risk of metabolic syndrome occurrence, it was noticed that the percentage of children who developed Metabolic Syndrome (METS) in both categories, both born in a normal state (appropriate for gestational age (AGA)) and the ones born being considered small for gestational age (SGA), increases with age. The most important increase was observed among teenagers, in children who were born small for gestational age (SGA) (26.3% small for gestational age (SGA) versus 15.7% appropriate for gestational age (AGA)).

An important objective of the study was to evaluate the effect of maternal pregnancy induced hypertension (PIH) on the gestational age in correlation with the growth and development of the fetus. The incidence of maternal pregnancy induced hypertension (PIH) in newborns included in the study was 0.94%, 2.7% of the patients were eligible for the small for gestational age (SGA) category, and 4.7% of all patients were prematurely born.

The incidence of premature birth was significantly higher in newborns from mothers with pregnancy induced hypertension (PIH) than in mothers without pregnancy induced hypertension (PIH) (62.1% versus 4.2%).

The small for gestational age (SGA) state was more common in preterm birth study groups compared with normal term newborns: 41.6% for the pregnancy induced hypertension (PIH)-Preterm study sub-group and 24.5% for non-pregnancy induced hypertension (PIH)-Preterm sub-group versus 13.6% for the pregnancy induced hypertension (PIH)-Term study sub-

group and 1.5% for the non-pregnancy induced hypertension (PIH)-Term subgroup. Also, it can be noticed the significantly higher prevalence of small for gestational age (SGA) state in the pregnancy induced hypertension (PIH)-Term subgroup compared to newborns belonging to the non-pregnancy induced hypertension (PIH)-Term subgroup (13.6% vs. 1.5%).

Further, it was desired to establish to what extent the development from the intrauterine period afflicted by the hypertensive pathology of the mother is correlated with the neonatal hematological pathologies.

Regarding the haematological profile of newborns, it can be seen that in the pregnancy induced hypertension (PIH) - appropriate for gestational age (AGA) group the average number of neutrophils  $[(9.29 \pm 6.04) \cdot 10^9/L]$  represents 71.5% of the normal value of this parameter recorded at the non-pregnancy induced hypertension (PIH) - appropriate for gestational age (AGA) control group  $[(12.99 \pm 4.55) \cdot 10^9/L]$  and in the pregnancy induced hypertension (PIH)- small for gestational age (SGA) group the average neutrophil count  $[(7.49 \pm 5.42) \cdot 10^9/L]$  is only 62.2% of the value recorded by the non - pregnancy induced hypertension (PIH)- small for gestational age (SGA) control group  $[(12.04 \pm 4.71) \cdot 10^9 / L]$ .

As expected, pregnancy induced hypertension (PIH)- small for gestational age (SGA) newborns were most affected by haematological abnormalities (33.3% neutropenic and 27.7% thrombocytopenic newborns) followed by pregnancy induced hypertension (PIH) - appropriate for gestational age (AGA) newborns who also had high prevalence of haematological changes (22.5% patients with thrombocytopenia). Compared to the two study groups represented by newborns affected by maternal pregnancy induced hypertension (PIH), the non pregnancy induced hypertension (PIH)- small for gestational age (SGA) control group showed much lower percentages of both neutropenia and thrombocytopenia (2.63% and 1.97 %), whereas the non-pregnancy induced hypertension (PIH) - appropriate for gestational age (AGA) witness group showed no haematological changes.

The regression and correlation analysis was performed in order to determine the degree of interdependence between the studied variables. A negative correlation between the maternal pregnancy induced hypertension (PIH) and the changes in the hematological profile of the infant was found in

both neonatal neutropenia and thrombocytopenia ( $p < 0.001$  and  $p < 0.05$ , respectively).

The determination of the neurological profile of newborns was performed by assessing the incidence, the risk factors and the basic mechanisms of hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE) and intraventricular haemorrhage (IVH) in these newborns.

It was noted that, regardless of birth weight, preterm newborns had a higher incidence of hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE) and intraventricular haemorrhage (IVH) than normal term born infants (26.1% small for gestational age (SGA) Preterm and 11.5% appropriate for gestational age (AGA) Preterm versus 11.8% small for gestational age (SGA) Term and 0% appropriate for gestational age (AGA) Term, respectively 20.3% small for gestational age (SGA) Preterm and 15.9% appropriate for gestational age (AGA) Preterm versus 7.9% small for gestational age (SGA) Term and 0% appropriate for gestational age (AGA) Term).

Regarding the variation of selenium concentration in the umbilical blood (SeCO) and urine (SeU), by birth weight (GN), in children from normotensive mothers, there is a small positive correlation, illustrated by the simple regression ( $R^2 = 13.3\%$  for selenium concentration in the umbilical blood (SeCO) and 24.5% for selenium concentration in the urine (SeU)), but still statistically significant ( $p_{\text{Stat}} = 0.0016$  for selenium concentration in the umbilical blood (SeCO) and  $9.76 \cdot 10^{-6}$  for selenium concentration in the urine (SeU)).

Regarding the variation of of selenium concentration in the umbilical blood (SeCO) and urine (SeU), respectively, according to maternal blood pressure (Tmat), in appropriate for gestational age (AGA) newborns it is observed that there is a small negative correlation illustrated by the simple regression ( $R^2 = 7.1\%$  for selenium concentration in the umbilical blood (SeCO) and 7.3% for selenium concentration in the urine (SeU)), which, however, is statistically significant ( $p_{\text{Stat}} = 0.0045$  for selenium concentration in the umbilical blood (SeCO) and 0.0040 for selenium concentration in the urine (SeU)).

Analyzing the variation of selenium concentration in the umbilical blood (SeCO) and selenium concentration in the urine (SeU) with maternal blood pressure in small for gestational age (SGA) newborns, a more pronounced negative correlation can be observed ( $R^2 = 25.3\%$  for selenium concentration

in the umbilical blood (SeCO) and 26.6% for selenium concentration in the urine (SeU)). Also, a simple regression also shows that the difference between values is statistically significant ( $p_{\text{Stat}} = 0.0033$  for selenium concentration in the umbilical blood (SeCO) and 0.0025 for selenium concentration in the urine (SeU)).

Analyzing the variation of selenium concentration in the umbilical blood (SeCO) and selenium concentration in the urine (SeU) with the weight of newborns, in the case of the hypertensive mothers it can be noted that the simple regression results in a positive correlation between values ( $R^2 = 15.0\%$  for selenium concentration in the umbilical blood (SeCO) and 17.8% for selenium concentration in the urine (SeU)) which is statistically significant ( $p_{\text{Stat}} = 0.0008$  for selenium concentration in the umbilical blood (SeCO) and 0.0002 for selenium concentration in the urine (SeU)).

## Discussions

Referring to the two important research mentioned in the specialized literature, which monitor the short and long term complications that can occur in obese children, namely: Hagenau - retrospective study [**Meas et al, 2008; Levy-Marchal et al, 2010**] and CASyMIR - prospective still undergoing study [**CRNH Rhône-Alpes**], we can say that our results are quite close.

The prevalence of premature birth was higher in newborns with maternal pregnancy induced hypertension (PIH), and the small for gestational age (SGA) status was more common in infants from pregnancy induced hypertension (PIH) mothers, which is consistent with the specialized literature [**Xiong et al, 2002; Madan et al., 2010**].

As expected, those most affected by pregnancy-induced maternal hypertension are the newborns belonging to the pregnancy induced hypertension (PIH)-Preterm- small for gestational age (SGA) study subgroup. It is supposed that in these newborn babies, additional to the maternal hypertensive pathology, there are also other causes that cause very poor intrauterine development. For these reasons, the babies were born prematurely and had a low birth weight, even related to the gestational age, which was also low.

The “ischemic model” proposed by several authors argues that maternal pregnancy induced hypertension (PIH) modifies the intrauterine

environment by reducing blood flow to the placenta and, ultimately, to the fetus, which leads to further damage to the production of the fetal bone marrow of the myeloid lineage [**McPherson and Juul, 2004; Backes et al., 2011; Lin et al., 2015**]. Other studies consider that neutropenia and thrombocytopenia associated with small for gestational age (SGA) status are more directly related to fetal growth restriction, with different etiologies than to maternal hypertension [**Christensen et al, 2015**].

The current study highlights the fact that the infants who were small for the gestational age, from mothers with hypertensive pathology, PIH-SGA, had the highest prevalence of neutropenia and neonatal thrombocytopenia in all studied groups (33.3% and 27.7% respectively). The aforementioned facts are statistically validated by the  $p < 0.05$  values and the higher  $t_{\text{stat}}$  values compared to  $t_{\text{crit}}$ .

The hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE) and the intraventricular haemorrhage (IVH) are thought to be pathologically interdependent [**Hill and Volpe, 1981; Barnes, 2001; Douglas-Escobar and Weiss, 2013**]. This hypothesis is supported by the results of this study, which operates with values and models similar to those mentioned in the medical literature, regarding the incidence and the percentage distribution of hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE) and the intraventricular haemorrhage (IVH).

While the specialized literature data support a strong correlation between premature delivery and the hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE) [**Logitharajah et al, 2009; Gopagondanahalli et al., 2016; Vesoulis and Mathur, 2017**], the connection between pre-term birth and intraventricular haemorrhage (IVH) continues to be intensely debated [**Papile et al, 1978; Volpe, 1989; Kratzer et al., 2014**].

In this study, both the hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE) and the intraventricular haemorrhage (IVH) had a higher incidence among preterm newborns, regardless of birth weight, suggesting that the potential mechanism is based on a hypoxic lesion that affects immature brain structures.

The performed study shows that oxidative stress due to maternal pregnancy induced hypertension (PIH), in addition to oxidative stress of other specific nature, causes an extremely poor intrauterine development of the fetus and greatly increases the risk of small for gestational age (SGA) births among pregnancy induced hypertension (PIH) mothers.

The decrease of the umbilical and urinary selenium concentrations in small for gestational age (SGA) children from pregnancy induced hypertension (PIH) mothers compared to appropriate for gestational age (AGA) children from mothers with pregnancy induced hypertension (PIH) (36.5% for selenium concentration in the umbilical blood (SeCO) and 44.0% for selenium concentration in the urine (SeU) reveals that maternal hypertension generates a strong oxidative stress which can not be countered by the fetus.

The small for gestational age (SGA) infants from mothers with pregnancy induced hypertension (PIH) have a degree of Se excretion in urine with a significantly lower average (52.8%) than that of normal born children from mothers with pregnancy induced hypertension (PIH) (59.2%), indicating that, although the fetus tries to keep selenium reserves in the body to fight oxidative stress due to maternal pregnancy induced hypertension (PIH), it can not always counteract it and develop normally.

## CONCLUSIONS

1. The incidence of maternal pregnancy-induced hypertension, PIH estimated by this study, was 0.94%, significantly lower compared to the values quoted in the medical literature: 7.8% [Sajith et al, 2014], 10% [ACOG, 2013], 19.4% [Muti et al., 2015].

2. The incidence of premature birth was much higher to newborns from mothers with pregnancy induced hypertension (PIH) than in mothers without pregnancy induced hypertension (PIH) (62.1% vs. 4.2%).

3. The small for gestational age (SGA), was more common in pregnancy induced hypertension (PIH) mothers, which is consistent with the specialized literature [Xiong et al, 2002; Madan et al., 2010].

4. The small for gestational age (SGA) status was also more common in preterm birthgroups compared to normal term newborns.

6. The small for gestational age (SGA) status and prematurity are connected to one another and more prevalent among newborns with maternal pregnancy induced hypertension (PIH). It can be concluded that maternal pregnancy induced hypertension (PIH) has a negative effect on the growth and development of the fetus.

7. The proportion of children who develop metabolic syndrome (MetS) in both categories, both those born as appropriate for gestational age (AGA)

and those born as small for gestational age (SGA), increase with age, and is more important in infants born small for gestational age.

9. In terms of haematological profile, it can be stated that maternal pregnancy induced hypertension (PIH) has a significant effect on the occurrence of neonatal neutropenia and thrombocytopenia, both in appropriate for gestational age (AGA) newborns and small for gestational age (SGA) newborns. Preterm birth and small for gestational age (SGA) status in newborns from pregnancy induced hypertension (PIH) mothers are factors contributing to increased incidence and severity of these haematological changes.

10. Regarding the neurological profile, it was found that, regardless of birth weight, preterm newborns had a higher incidence of hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE) and IVH (Intraventricular Hemorrhage) than infants born to term. In addition, small for gestational age (SGA) status in newborns from pregnancy induced hypertension (PIH) mothers is an additional risk factor that can aggravate the severity of neurological conditions.

11. Regarding the Influence of intrauterine oxidative stress on fetal development, there is a direct proportionate relationship between birth weight and selenium concentrations in umbilical cord blood and urine of newborn infants from normotensive mothers.

12. The selenium concentration in the umbilical blood (SeCO) and the selenium concentration in the urine (SeU) reveal the strong influence of oxidative stress due to maternal pregnancy induced hypertension (PIH) among children born with small for gestational age (SGA) status compared to those born with appropriate for gestational age (AGA) status.

13. The results show that the selenium concentration in the umbilical blood (SeCO) and the selenium concentration in the urine (SeU) can be used as markers of oxidative stress due to pregnancy-induced hypertension, even in the case of normal born babies.



## SELECTIVE REFERENCES

1. Varga, P., Berecz, B., Gasparics, A., Dombi, Z., Varga, S., Jeager, J., Magyar, Z., Rigó Jr, J., Joó, J.G., Kornya, L., Morbidity and mortality trends in very-very low birth weight premature infants in light of recent changes in obstetric care, *Eur J Obst Gyn Rep Biol*, **2017**, 211: 134-139;
2. Meas, T., Deghmoun, S., Armoogum, P., Alberti, C., Marchal, C.L.. Consequences of being born small for gestational age on body composition: an 8-year follow-up study, *J Clin Endocrinol Metab*, **2008**, 93(10): 3804-3809;
3. Levy-Marchal, C., Arslanian, S., Cutfield, W., Sinaiko, A., Druet, C., Marcovecchio, M.L., Chiarelli, F., Insulin resistance in children: consensus, perspective, and future directions, *J Clin Endocrinol Metab*, **2010**, 95(12), 5189-5198; DOI: 10.1210/ jc.2010-1047, PMID: 20829185, PMCID: PMC3206517;
4. CRNH Rhône-Alpes, Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes, [www.crn-rhone-alpes.fr](http://www.crn-rhone-alpes.fr);
5. Xiong, X., Demianczuk, N.N., Saunders, L.D., Wang, F.L., Fraser, W.D., Impact of Preeclampsia and Gestational Hypertension on Birth Weight by Gestational Age, *Am J Epidemiol*, **2002**, 155(3): 203-209, PMID: 11821244;
6. Madan, J., Chen, M., Goodman, E., Davis, J., Allan, W., Dammann, O., Maternal obesity, gestational hypertension, and preterm delivery, *J Matern Fetal Neonatal Med*, **2010**, 23(1): 82-88, DOI: 10.3109/14767050903258738, PMID: 19903115;
7. McPherson, R.J. and Juul, S., Patterns of Thrombocytosis and Thrombocytopenia in Hospitalized Neonates, *J Perinatol*, **2004**, 25(3):166-172, PMID: 15578031, DOI: 10.1038/sj.jp.7211230;
8. Backes, C.H., Markham, K., Moorehead, P., Cordero, L., Nankervis, C.A., Giannone, P.J., Maternal Preeclampsia and Neonatal Outcomes, *J Pregnancy*, **2011**, 2011: 214365, PMID: 21547086, doi: 10.1155/2011/ 214365;
9. Lin, S., Leonard, D., Co, M.A., Mukhopadhyay, D., Giri, B., Perger, L., Beeram, M.R., Kuehl, T.J., Uddin, M.N., Pre-eclampsia has an adverse impact on maternal and fetal health, *Transl Res*, **2015**, 165(4): 449-63;
10. Christensen, R.D., Yoder, B.A., Baer, V.L., Snow, G.L., Butler, A., Early-Onset Neutropenia in Small-for-Gestational-Age Infants, *Pediatrics*, **2015**, 136(5): E1259-E1267, DOI: 10.1542/peds.2015-1638, PMID: 26459642;
11. Hill, A. and Volpe, J.J., Seizures, hypoxic-ischemic brain injury, and intraventricular hemorrhage in the newborn, *Ann Neurology*, **1981**, 10(2): 109-121;
12. Barnes, P.D., Neuroimaging and the timing of fetal and neonatal brain injury, *J Perinatol*, **2001**, 21(1): 44-60;
13. Douglas-Escobar, M. and Weiss, M., Biomarkers of Brain Injury in the Premature Infant, *Frontiers in Neurology*, **2013**, 3: 185, DOI: 10.3389/fneur.2012.00185, PMID: 23346073, PMCID: PMC3551194;

14. Logitharajah, P., Rutherford, M.A., Cowan, F.M., Hypoxic-ischemic encephalopathy in preterm infants: antecedent factors, brain imaging, and outcome, *Pediatr Res*, **2009**, 66(2): 222-229;
15. Gopagondanahalli, K.R., Li, J., Fahey, M.C., Hunt, R.W., Jenkin, G., Miller, S.L., Malhotra, A., Preterm Hypoxic-Ischemic Encephalopathy, *Frontiers in Pediatrics*, **2016**, 4: 114, DOI: 10.3389/fped.2016.00114, PMID: 27812521, PMCID: PMC5071348;
16. Vesoulis, Z.A. and Mathur, A.M., Cerebral Autoregulation, Brain Injury, and the Transitioning Premature Infant, *Front Pediatr*, **2017**, 5(64); PMCID: PMC5377300, DOI:10.3389/fped.2017.00064;
17. Papile, L-A., Burstein, J., Burstein, R., Koffler, H., Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: A study of infants with birth weights less than 1,500 gm, *J Pediatr*, **1978**, 92(4): 529-534;
18. Volpe, J.J., Intraventricular hemorrhage in the premature infant - current concepts, Part I, *Ann Neurology*, **1989**, 25(1): 3-11, DOI: 10.1002/ana.410250103;
19. Kratzer, I., Chip, S., Vexler, Z.S., Barrier mechanisms in neonatal stroke, *Front Neurosci*, **2014**, 8:359.