

Sveučilište u Splitu
Medicinski fakultet

Andrea Dagelić

**Utjecaj COVID-19 pandemije na ishode trudnoća i patohistološke
karakteristike posteljica u KBC-u Split**

Doktorska disertacija

Split, 2023.

Rad je izrađen na Odjelu patologije Kliničkog zavoda za patologiju, sudsku medicinu i citologiju te Klinici za ženske bolesti i porode KBC Split.

Mentor: doc.dr.sc. Sandra Zekić Tomaš, dr.med.

ZAHVALE

Od srca hvala mojoj mentorici docentici Sandri Zekić Tomaš. Hvala na svim savjetima i svom trudu i vremenu koje je nesebično uložila u mene. Hvala na uvijek pozitivnom stavu i što mi je pokazala da se može. Hvala na velikom povjerenju zbog kojeg sam neizmjereno puno naučila i napredovala.

Hvala svim ostalim kolegama koji su sudjelovali u mojim radovima i pomagali mi na mom putu. Hvala profesoru Stefanoviću i docentici Rešić Karari što su mi pomogli u ključnom trenutku mog puta te me pogurali prema naprijed.

Hvala mojoj baki Branki na lektoriranju. Uvijek ćeš biti moja najdraža profesorica!

Hvala mojim roditeljima radi kojih sam ovo što sam danas. Hvala vam što ste mi omogućili sve, a moje je bilo "samo učiti". Drago mi je što sam vas učinila ponosnima.

Najviše od svega hvala mom suprugu Anti, koji je najbliže ovo prolazio samnom, koji je bio moj drugi mentor i savjetnik, moja utjeha i moja motivacija. Ti si ovo sve prošao i ti si me najbolje razumio. Doduše nisi baš ni imao izbora. Hvala na beskrajnoj ljubavi i strpljenju.

Hvala i mojoj djeci Marti i Petru što su bili divna djeca i "dopustili" mami da napiše disertaciju.

SADRŽAJ

POPIS KRATICA.....	1
1. UVOD.....	3
1.1. COVID-19.....	3
1.1.1. COVID-19 pandemija.....	3
1.1.2. Patofiziologija SARS CoV-2.....	3
1.1.3. Trudnoća i COVID-19.....	5
1.1.4. Liječenje trudnica sa COVID-19 infekcijom te cijepljenje kao prevencija.....	7
1.2. Posteljica.....	8
1.2.1. Razvoj, građa i funkcija.....	8
1.2.2. Posteljica i COVID-19 infekcija.....	10
1.2.3. Maternalna vaskularna malperfuzija.....	11
1.2.4. Fetalna vaskularna malperfuzija.....	12
1.2.5. Nakupljanje periviloznog fibrina.....	13
1.3. Niskomolekularni heparin- LMWH.....	13
1.3.1. Djelovanje LMWH i primjena u trudnoći.....	14
1.3.2. RCOG smjernice u COVID-19 pandemiji.....	14
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZE.....	16
3. MATERIJALI I METODE ISTRAŽIVANJA.....	17
3.1. Materijali.....	17
3.1.1. Prikupljanje podataka o trudnicama i posteljica iz skupine utjecaja tromjesečja COVID-19 infekcije i LMWH terapije na morfologiju posteljice.....	17
3.1.2. Prikupljanje podataka o nepovoljnim ishodima trudnoća prije i za vrijeme COVID-19 pandemije.....	18
3.2. Metode.....	19
3.2.1. Obrada i patohistološki pregled posteljica.....	19
3.2.2. Klasifikacija nepovoljnih ishoda trudnoće.....	19
3.2.3. Statistička obrada podataka.....	22
4. REZULTATI.....	22
4.1. Usporedba opisnih podataka ovisno o primjeni LMWH terapije.....	23

4.2. Morfološke karakteristike posteljica ovisno o primjeni LMWH terapije	25
4.3. Morfološke karakteristike posteljica ovisno o tromjesečju COVID-19 infekcije.....	27
4.4. Opisni podatci ispitivanih trudnica i morfološke promjene posteljica ovisno o tromjesečju COVID-19 infekcije.....	29
4.5. Demografski podatci pacijentica sa pobačajima prije i za vrijeme COVID-19 pandemije.....	31
4.6. Demografski podatci za fetalnu i neonatalnu smrt u odnosu na COVID-19 pandemiju.....	33
4.7. Klasifikacija perinatalne smrti prema ReCoDe klasifikaciji i COVID-19 pandemiji.....	34
5. RASPRAVA.....	36
6. ZAKLJUČCI.....	43
7. SAŽETAK.....	44
8. SUMMARY.....	46
9. LITERATURA.....	48
10. ŽIVOTOPIS.....	63

POPIS KRATICA:

COVID-19- engl. coronavirus disease 2019

SZO- Svjetska zdravstvena organizacija

SARS CoV-2- Severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2

CRP- razina C-reaktivnog proteina

ESR- brzina sedimentacije eritrocita

PV- protrombinsko vrijeme

aPTT- produljeno aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme

ACE2- angiotenzin konvertirajući enzim 2

VLP- cjepivo protiv čestica sličnih virusu

STB- sinciotrofoblast

FDA- Uprava za hranu i lijekove

CDC- Centar za kontrolu i prevenciju bolesti

ACOG- engl. The American College of Obstetricians and Gynecologists

IUZR- intrauterine zastoj u rastu

TLC- toll-like receptora

MVM- maternalna vaskularna malperfuzija

FVM- fetalna vaskularna malperfuzija

LMWH- engl. low molecular weight heparin (niskomolekularni heparin)

RCOG- engl. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists

PCR- engl. polymerase chain reaction

ReCoDe- engl. Relevant Condition at Death

SD- standardna devijacija

VUE- villitis of unknown etiology (hrv. villitis nepoznate etiologije)

HELLP- engl. Hemolysis, Elevated Liver enzymes and Low Platelets

1. UVOD

1.1. COVID-19

1.1.1. COVID-19 pandemija

Pandemija COVID-19 (engl. coronavirus disease 2019), poznata kao i pandemija koronavirusa se prvi put pojavila krajem prosinca 2019. u gradu Wuhanu u Kini. Bolest se potom vrlo brzo proširila na ostatak svijeta. Dana 11. ožujka 2020. godine, Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) je službeno proglasila prethodnu epidemiju pandemijom, što je zapravo prva pandemija nakon pandemije svinjske gripe 2009. Do lipnja 2020. godine pandemija je potvrđena u 213 zemalja ili teritorija. Dana 04. lipnja 2022. u svijetu je zabilježeno 534 854 618 zaraženih osoba COVID-19 infekcijom, od kojih se 505 640 031 oporavilo, a 6 319 308 je umrlo (1). Prvi slučaj zaraze koronavirusom u Hrvatskoj potvrđen je 25. veljače 2020. Hrvatska je proglasila pandemiju 11. ožujka, kada je i SZO proglasila pandemiju. U travnju 2020. Hrvatska vlada donijela je odluke o zabrani napuštanja mjesta prebivališta u Republici Hrvatskoj, zabrani prelaska graničnih prijelaza, ograničen je brodski i cestovni promet, nastava se održavala putem interneta, zatvoreni su ugostiteljski objekti, uvedeno je posebno radno vrijeme za trgovine i niz drugih odredbi poznatih kao dio "lockdown-a", a u svrhu usporenja rasta oboljelih i smanjenja preopterećenja bolničkog sustava. Hrvatska vlada je proglasila kraj pandemije 11. svibnja 2023. Od početka pandemije do proglašenja kraja pandemije u Hrvatskoj su testirane 4 770 929 osobe, od kojih je COVID-19 virus potvrđen kod 1 273 256 osoba, a 18213 osoba je preminulo (2).

1.1.2. Patofiziologija SARS CoV-2

Korona virus ili virus SARS-CoV-2 (engl. severe acute respiratory syndrome corona virus 2) je jednolančani RNK virus, novi soj virusa koji je uzrokovao COVID-19 pandemiju. Ulazi u ljudske stanice vežući se za angiotenzin konvertirajući enzim 2 (ACE2). Nakon što se SARS-CoV-2 virion pričvrsti na ciljanu stanicu, stanična transmembranska serin proteaza 2 (TMPRSS2) razreže šiljasti protein virusa, izlažući fuzijski peptid. Tada virion oslobađa RNK u stanicu, prisiljavajući je da stvara kopije virusa koji se diseminiraju kako bi virus inficirao više stanica. Virus najčešće pogađa respiratorni sustav, ali se može naći i u drugim organskim sustavima kao što su gastrointestinalni, retikuloendotelni te posteljica. Nakon vezanja na epitelne stanice u respiratornom traktu, SARS-CoV-2 započinje umnožavanje i migraciju prema dišnim putevima i alveolarnom epitelu pluća. Brzo umnožavanje SARS-CoV-2 u

plućima može izazvati snažan imunološki odgovor. Sindrom citokinske oluje uzrokuje sindrom akutnog respiratornog distresa i respiratorno zatajenje, koje se smatra glavnim uzrokom smrti pacijenata s COVID-19 (3). Širenje bolesti u Europi prvenstveno je uzrokovano kapljičnim prijenosom s čovjeka na čovjeka. Razdoblje inkubacije iznosi do 14 dana nakon izlaganja uzročniku, a prosječna inkubacija je od četiri do pet dana. Oboljeli sa izraženim simptomima bolesti su najčešće u petom desetljeću života. Najčešći simptomi bolesti su povišena temperatura, slabost i suhi kašalj te gubitak osjeta njuha. Upala pluća je uzrok gotovo 90% hospitalizacija (4). Drugi važni simptomi koji su prepoznati i prijavljeni među pacijentima koji boluju od COVID-19 su neurološki poremećaji uključujući hiposmiju, anosmiju, parozmiju i disgeuziju, što ukazuje na kemosenzorni poremećaj. Glavobolja i vrtoglavica također su zabilježeni u blažim slučajevima. Zbunjenost ili poremećaj svijesti, akutni moždani udar, Guillain-Barréov sindrom i meningoencefalitis neke su od težih neuroloških prezentacija. Osim respiratornog sustava, COVID-19 infekcija zahvaća i druge organske sustave. Kod pacijenata liječenih zbog akutne infekcije COVID-19 na intenzivnoj njezi do 30% bilo je komplicirano tromboembolijskim događajem, poput tromboze i infarkta miokarda. Zabilježene su i komplikacije od strane kardiovaskularnog sustava, koje su izravno ili neizravno dovele do kardiovaskularnih ozljeda kao što su: kardiomiopatije, srčane aritmije, akutni koronarni sindrom i kardiogeni šok. Kod 37% hospitaliziranih bolesnika s COVID-19 infekcijom došlo je do razvoja akutne ozljede bubrega, koja se prezentirala hematurijom i proteinurijom. Dodatni simptomi poput anoreksije, proljeva, mučnine, povraćanja i bolova u truhu gastrointestinalni su simptomi povezani s produljenom infekcijom COVID-19. Povišeni bilirubin i eventualno oštećenje jetre također mogu biti posljedica infekcije COVID-19 (5). Najčešći laboratorijski nalaz u zaražene osobe je limfopenija, normalan ili niži broj bijelih krvnih stanica ili trombocitopenija, praćena povećanjem razine C-reaktivnog proteina (CRP). Drugi biljezi upale, kao što su; brzina sedimentacije eritrocita (ESR) i prokalcitonin također su povećani u akutnoj fazi COVID-19 infekcije, kao i produljeno protrombinsko vrijeme (PT) u kombinaciji s produljenim aktiviranim parcijalnim tromboplastinskim vremenom (aPTT). Zajedno s gore navedenim laboratorijskim nalazima, nalaz povišene razine D-dimera dodatno podupire koagulopatiju, te se koristi i za stupnjevanje težine bolesti. Visoka sumnja na COVID-19 može se uspostaviti kada se pacijent javi sa simptomima gornjih dišnih putova, vrućicom, limfopenijom ili leukopenijom zajedno s poviješću bliske izloženosti virusu ili putovanja u

endemsko područje (6). Da bi se prevenirala bolest ili bar smanjili simptomi i opasnost od infekcije virusom, razvijena su različita cjepiva protiv COVID-19. SZO klasificira cjepiva protiv COVID-19 koja su analizirana ili odobrena za klinička ispitivanja u sljedeće kategorije: inaktivirana cjepiva, živa atenuirana cjepiva, vektorska cjepiva, cjepiva RNK, DNK, proteinske podjedinice i cjepiva protiv čestica sličnih virusu (engl. virus-like particles, VLP). Cilj cijepljenja protiv COVID-19 infekcije je sprječavanje izbijanja bolesti poticanjem imunološkog odgovora. Nakon stimulacije antigenom, B i T limfociti formiraju odgovarajuće memorijske stanice kako bi zaštitili organizam od invazije istog patogena, obično na nekoliko godina. Ako se osoba koja je primila cjepivo protiv COVID-19 kasnije zarazi tim virusom, imunosni sustav prepoznaje virus. Budući da je imunosni sustav te osobe već spreman napasti virus, sposoban je zaštititi je od bolesti COVID-19 (7).

1.1.3. Trudnoća i COVID-19

Od početka COVID19 pandemije do danas stavovi medicinske struke o utjecaju COVID-19 infekcije na trudnice i ishode trudnoće su se mijenjali. Na početku COVID-19 pandemije trudnoća je smatrana faktorom rizika za teži oblik bolesti od COVID-19 infekcije. Iako je intrauterini prijenos SARS-CoV-2 rijedak, većina studija pokazuje da COVID-19 tijekom trudnoće povećava rizik od komplikacija u trudnoći, s većim rizikom među onima s teškom bolešću u usporedbi s onima koji su imali blage simptome (8). Za napomenuti je i rizik vertikalnog prijenosa virusa s majke na fetus (9,10). Napredovanje COVID-19 infekcije uglavnom ovisi o ulasku virusa u stanice domaćina nakon vezanja na ACE2, što može biti čimbenik koji čini trudnice osjetljivijima na COVID-19 budući se ACE2 između ostalog obilno izražava u posteljici. ACE2 se smatra ključnom komponentom renin-angiotenzinskog sustava za koji je dobro poznato da regulira hemodinamske prilagodbe majke (11). Otkriveno je da citotrofoblast (CTB) i sinciotrofoblast (STB) izražavaju ACE2 od sedmog tjedna trudnoće nadalje, što sugerira da SARS-CoV-2 može prijeći u posteljicu u bilo kojoj gestacijskoj dobi (12). Oštećenje endotela uzrokovano vezanjem S proteina virusa na ACE2 aktivira dva molekularna puta: 1) upalni put nastao oslobađanjem citokina te 2) mikrotrombotski put (aktivacija trombocita) (13). Upala uzrokuje oštećenje endotela i povećani izražaj i oslobađanje citokina što uzrokuje povećanu aktivaciju stanica imunološkog sustava na kojima dolazi do ekspresije ACE2 proteina, koji služi kao receptor i mjesto vezanja spike proteina SARS CoV2 virusa, što mu omogućava prolazak kroz posteljičnu imunološku

barijeru (14). Prema istraživanjima koja su objavljena kasnije tijekom pandemije, kliničke manifestacije COVID-19 kod trudnica slične su onima kod žena koje nisu trudne (15). Također, stopa kliničkih komplikacija infekcije COVID-19 kod trudnica vrlo je slična onoj u općoj populaciji (16). Kohortna studija koju je provela SZO, a koja je uključila 147 trudnica pozitivnih na COVID-19, izvijestila je da se 8% teško razboljelo, od kojih 1% kritično. Ovi podaci sugeriraju da su trudnice s infekcijom COVID-19 imale blaže kliničke manifestacije (15). Tijekom početne faze pandemije COVID-19 prema prvedenim istraživanjima nije bilo razlike u usporedbi žena zaraženih virusom COVID-19 sa zdravim ženama u pogledu učestalosti fetalnog distresa, prijevremenog poroda i neonatalne asfiksije (17). Međutim, u kasnijim fazama pandemije dokazi govore u prilog činjenici da SARS-CoV-2 ima negativan ishod na trudnoću, dok se vertikalni prijenos s majke na fetus rijetko pojavljuje. Nedavno objavljena studija je pokazala da trudnice s potvrđenom infekcijom SARS-CoV-2 imaju povećan rizik od prijevremenog poroda, preeklampsije i mrtvorodenčeta (10). Također je postojala razlika u simptomatskim i asimptomatskim COVID-19 pozitivnim trudnicama, gdje je povezanost povećanog rizika za porod carskim rezom, hipertenzivnih poremećaja i prijevremenog poroda bila više povezana sa simptomatskom infekcijom COVID-19. Gestacijski dijabetes, preeklampsija, niska porođajna težina i prijevremeni porod snažno su povezani sa teškom bolešću COVID-19 u usporedbi s blagom bolešću (10,18). Povezanost između preeklampsije i infekcije COVID-19 kod trudnica se još uvijek istražuje. Infekcija SARS-CoV-2 dovodi do disfunkcije renin-angiotenzinskog sustava, kao i do vazokonstrikcije zbog djelovanja putem ACE 2. Istraživanja su pokazala da kod pacijenta s COVID-19 može doći do proupalnog stanja i sistemske endotelne disfunkcije te preeklampsije. Sustavna endotelna disfunkcija je obilježje preeklampsije, stoga bolest COVID-19 i njezini vaskularni događaji mogu dijeliti zajednički put s preeklampsijom (18). Pobačaj je još jedan nepovoljan ishod koji se povezuje s trudnicama zaraženim SARS-CoV-2 (19,20). Upala posteljice i plosljedični zastoj rasta fetusa mogu dovesti do spontanog pobačaja kod trudnica zaraženih SARS-CoV-2 (21). Infekcija SARS-CoV-2 tijekom razdoblja prije začeca i tijekom prve polovice trudnoće povezana je s povećanim rizikom od pobačaja i neuspjeha implantacije embrija (22-24). Na ishode trudnoće ne utječe samo izravan utjecaj COVID-19, već i preopterećenost zdravstvenog sustava koji ne može zadovoljiti sve potrebe svojih korisnika tijekom pandemije, što je pridonijelo nepovoljnim ishodima i/ili komplikacijama u trudnoći

svih trudnica, uključujući i one koje nisu bile zaražene SARS-CoV-2. Zabilježena je povećana stopa mrtvorodenosti, pogoršanje mentalnog zdravlja majki i povećanje stope prekida izvanmaternične trudnoće što predstavlja kašnjenje u sustavu skrbi tijekom pandemije u usporedbi s onim u godinama prije pandemije (25). Pojedina istraživanja usmjerena na zemlje s niskim i srednjim dohotkom, procjenjujući potencijalni učinak smanjenja zdravstvenih usluga kao posljedicu COVID-19, sugerirala su značajna povećanja nepovoljnih ishoda trudnoća povezanih sa smanjenim korištenjem zdravstvene skrbi za trudnice (26). Naqvi i suradnici u svom istraživanju, koje je obuhvatilo 16 medicinskih centara diljem svijeta, navode kako je informiranost populacije o COVID-19 općenito bila niska i varirala je među različitim populacijama. Tijekom pandemije nije bilo značajnih promjena u znanju i informiranosti trudnica o COVID-19. Informiranost trudnica o upotrebi cjepiva protiv COVID-19 u trudnoći također je bila nezadovoljavajuća (27). Naqvi i suradnici u drugom istraživanju navode da je mali, ali značajan porast poroda kod kuće i smanjenje usluga prenatalne skrbi primijećen tijekom početnog razdoblja COVID-19. Međutim, nije došlo do povećanja stope mrtvorodenosti, neonatalne smrtnosti, smrtnosti majki, niske porođajne težine ili prijevremenog poroda tijekom razdoblja COVID-19 u usporedbi s prethodnom godinom (28).

1.1.4. Liječenje trudnica sa COVID-19 infekcijom te cijepljenje kao prevencija

Opće mjere kao što su rana izolacija, kontrola infekcije, empirijski antibiotici, terapija kisikom, mehanička ventilacija za respiratorno zatajenje, praćenje fetusa i multidisciplinarni pristup važni su u liječenju COVID-19 u trudnica (29). Hidroksiklorokin, ivermektin i nitazoksamid su antivirusni lijekovi koji smanjuju virusno opterećenje, a sigurni su i učinkoviti za upotrebu kod trudnica tijekom početne blage faze infekcije COVID-19. Azitromicin, antibiotik širokog spektra, može se koristiti kao monoterapija ili u kombinaciji s antivirusnim lijekovima, a posebno se pokazalo učinkovitim korištenje azitromicina zajedno s hidroksiklorokinom. Međutim, doza azitromicina je smanjena u trudnica u odnosu na žene koje nisu trudne (30,31). U umjerenim i teškim slučajevima COVID-19, liječenje trudnica ne bi se trebalo razlikovati od onih koje nisu trudne. Kortikosteroidi se danas smatraju najvažnijim lijekovima kod infekcije COVID-19 (32). I bolest COVID-19 i sama trudnoća dovode do stanja hiperkoagulacije, s povećanim rizikom od duboke venske tromboze i plućne embolije. Većina autora i istraživačkih radova slaže se da je antikoagulantna terapija enoksaparinom korisna u kritično bolesnih trudnica (33,34). Cjepiva protiv COVID-19 temeljena na mRNA razvijena

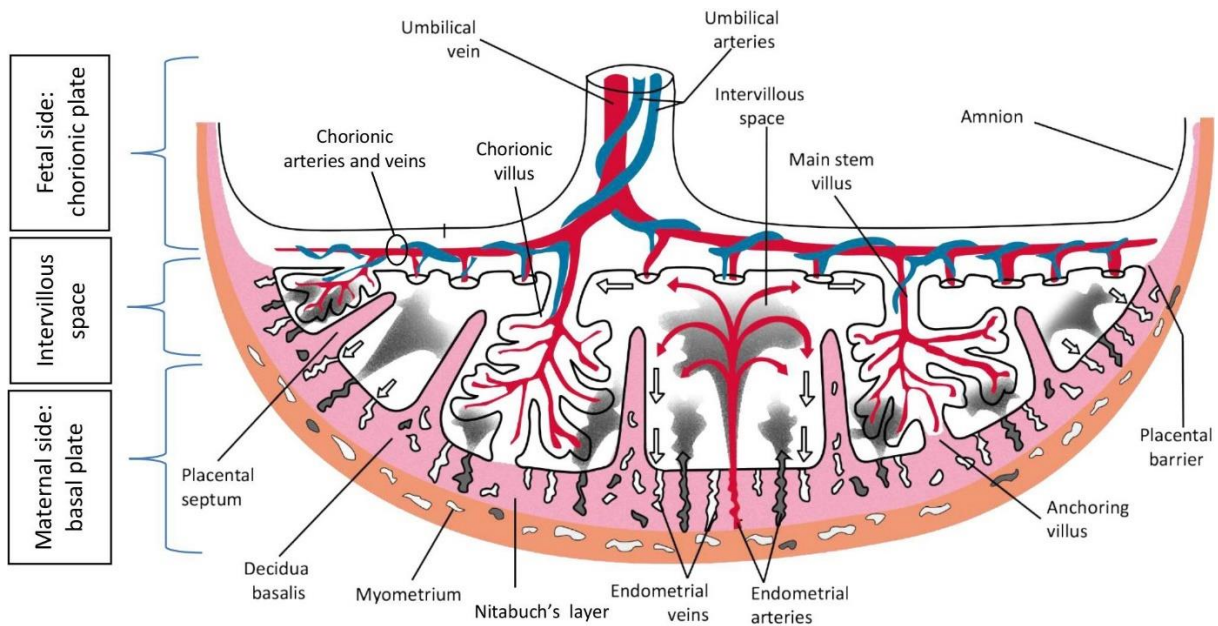
su kao platforme za cjepiva nove generacije i stoga se pojavila određena zabrinutost u vezi s njihovom sigurnošću posebice za trudnice (35). Sigurnost i mehanizam ovih cjepiva potkrijepljeni su kliničkim ispitivanjima i znanstvenim dokazima. Nakon kliničkih ispitivanja, Uprava za hranu i lijekove (FDA) u kolovozu 2021. u potpunosti je odobrila Pfizer-BioNTech mRNA cjepivo za upotrebu u Sjedinjenim Američkim Državama za odrasle od 16 godina i starije, uključujući trudnice (36). CDC (Centar za kontrolu i prevenciju bolesti) je izvijestio o dodatnoj analizi podataka, koji nisu otkrili povećani rizik od pobačaja među trudnicama koje su primile mRNA cjepivo protiv COVID-19 (37). ACOG (engl. The American College of Obstetricians and Gynecologists) i Društvo fetomaternalne medicine objavili su da bi sve trudnice trebale biti cijepljene kako bi se smanjio maternalni i fetalno-neonatalni pobol i smrtnost (38). Iako je u početku bila vrlo mala procjepljenost trudnica, sada se taj broj sve više povećava te je sve više istraživanja koja ukazuju na sigurnost primjene cjepiva u trudnoći (39-41).

1.2.Posteljica

1.2.1. Razvoj, građa i funkcija

Posteljica (lat. placenta: kolač, od grč. plakuos: ravan kolač) privremeni je endokrini organ koji nastaje isključivo u trudnoći, sjedinjenjem tkiva majke i tkiva zametka u morfološku i funkcionalnu cjelinu. Jedini je čovjekov organ koji se po završenoj funkciji jednostavno odbacuje (42). Razvoj posteljice je vrlo složen. Nakon oplodnje iz oplođene jajne stanice razvija se zigota, a iz nje blastocista. Blastocistu izvana oblaže trofoblast, koji je preteča posteljice. U šupljini blastociste je nakupina stanica, odnosno embrioblast, koji je preteča embrija i pupkovine. U ovom se obliku oplođena jajna stanica implantira u endometrij, koji je tada u sekrecijskoj fazi predecidualno promijenjene strome. Između šestog i sedmog dana od oplodnje blastocista se apozicijom veže za endometrij i prodire u njega. Tijekom sljedećih nekoliko dana trofoblast prolifera pri čemu nastaju: unutarnji sloj- citotrofoblast, koji nije u dodiru s endometrijem i vanjski sloj- sinciotrofoblast, koji nastaje stapanjem susjednih stanica citotrofoblasta. Sinciotrofoblast stvara prstolike izdanke koji prodiru sve dublje u endometrij. Potom slijedi lakunarni stadij kada sinciotrofoblast koji okružuje blastocistu urasta u kapilare i venule endometrija koji se nalazi u blizini. Spajanjem lakuna unutar mase sinciotrofoblasta i kapilara endometrija nastaju sinusoide, koje kasnije čine intervilozni prostor. Nakon implantacije slijedi razvoj posteljičnog stabla, to jest korionskih resica oko

blastociste. Svaka resica građena je od strome i pokrovnog epitela. Epitel resice jest već ranije spomenuti citotrofoblast i sinciotrofoblast. Stroma resice je građena od fibroblasta, ogranaka fetalnih krvnih žila i makrofaga ili Hofbauerovih stanica. Izgled posteljičnog stabla se mijenja ovisno o gestacijskoj dobi, te je omjer različitih vrsta korionskih resica, od zametnih resica do terminalnih resica, drugačiji. Na terminu većinu korionskih resica čine terminalne resice s razvijenim metaboličkim membranama i sincicijskim čvorićima (43). U konačnici je posteljica građena od korionske ploče na strani fetusa, koja sadrži mjesto insercije pupkovine i bazalne ploče na strani majke, dok se postranično na korionskoj ploči nalaze posteljični ovoji ili membrane (Slika 1). Unutar korionske ploče su korionske arterije i vene, koje nastaju grananjem umbilikalnih arterija i pupčane vene, a dalje se granaju u arteriole i venule korionskih resica. Bazalnu ploču čini heterogena mješavina stanica trofoblasta i decidualnih stanica uz arterije i venule podrijetla endometrija. Iz bazalne ploče placentne pregrade izbočuju se u intervilozni prostor, stvarajući sustav žljebova koji ograničavaju 10-40 uzdignutih područja, također poznatih kao kotiledoni. U bazalnu ploču prodiru arterije i venule endometrija. Razmjena između fetalnog i majčinog krvožilnog sustava odvija se između resica glavnog stabla i majčinih endometrijskih arterija i venula u interviloznom prostoru (44). Na terminu je posteljica diskoidnog oblika, promjera 15 – 20 cm, debljine 3 – 5 cm i mase 500 – 600 grama. Krvotok u posteljici je dvojak: fetalni optok krvi čine ogranci pupčanih (umbilikalnih) krvnih žila koje u najmanjim resicama završavaju mrežom kapilara. Ogranci umbilikalnih arterija dovode iz fetusa u posteljicu vensku krv, a ogranci pupčane vene odvođe iz posteljice u fetus atrerijsku (oksigeniziranu) krv (45).



Slika 1. Shematski prikaz građe posteljice. Preuzeto iz *Jansen CHJR, Kastelein AW, Kleinrouweler CE, Van Leeuwen E, De Jong KH, Pajkrt E, Van Noorden CJF. Development of placental abnormalities in location and anatomy. Acta Obstet Gynecol Scand. 2020 Aug;99(8):983-993. doi: 10.1111/aogs.13834. Epub 2020 Mar 18. PMID: 32108320; PMCID: PMC7496588.*

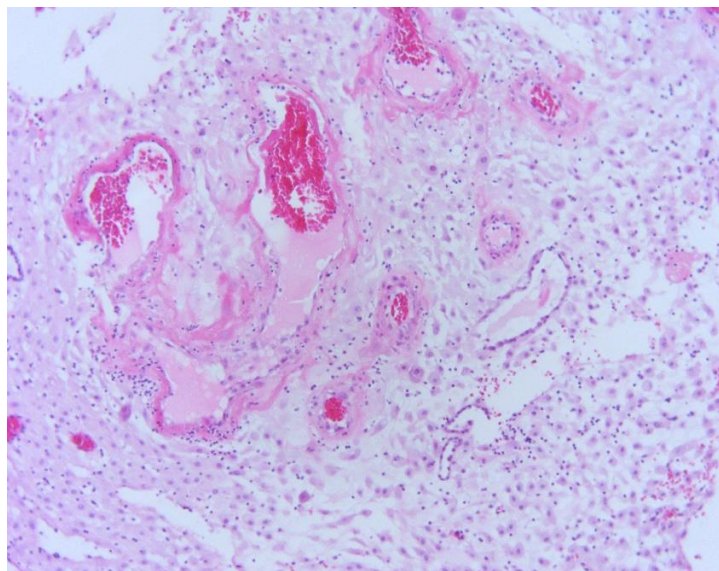
1.2.2. Posteljica i COVID-19 infekcija

Posteljica je jedinstven organ s velikom sposobnošću obrane od raznih uljeza. Kreis i suradnici navode da većina obrambenih mehanizama posteljice počiva na jedinstvenoj strukturi sinciciotrofoblasta (46). STB je periodično obnavljani vanjski sloj resica posteljice koji je gusto zbijen ne ostavljajući gotovo nikakve stanične praznine za mogući ulazak mikroorganizama u resice. Izražaj toll-like receptora (TLC) na STB-u je velik, čime se onemogućuje ulazak patogena. Podaci o vertikalnom prijenosu SARS-CoV 2 su rijetki, no mnoga su istraživanja ukazala na tu mogućnost (10,47-50). Studija posteljica izloženih SARS-CoV-2 pokazala je da su čestice virusa proizvedene unatoč izazivanju citotoksičnosti ili proupalnog citokinskog odgovora (51). Nedavna istraživanja su pokazala da se SARS-CoV-2 može učinkovito replicirati u ex-vivo kulturama posteljica te da su STB-ovi pogodan domaćin za virus (52). Nekoliko je studija opisalo morfološke karakteristike posteljica trudnica

pozitivnih na COVID-19. Opisana je veća učestalost majčine vaskularne malperfuzije (MVM), fetalne vaskularne malperfuzije (FVM) i povećanje periviloznog taloženja fibrina (53-58).

1.2.3. Maternalna vaskularna malperfuzija

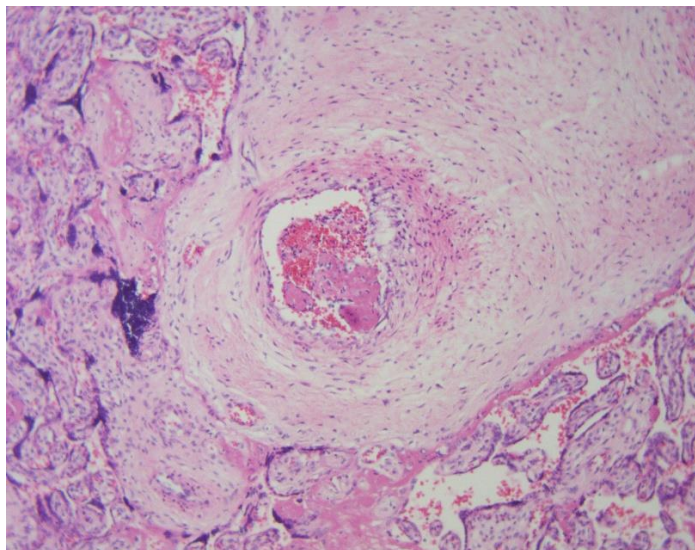
Maternalna vaskularna malperfuzija određuje se prema makroskopskim i mikroskopskim obilježjima. Makroskopska obilježja uključuju hipoplaziju posteljice, infarkt i retroplacentarno krvarenje. Hipoplazija posteljice odražava se u težini posteljice koja je niska za gestacijsku dob (težina <10. centila) i/ili tanka pupčana vrpca (<10. centila ili <8 mm promjera u terminu). Mikroskopski nalazi uključuju abnormalnosti razvoja resica koje se mogu razdvojiti na distalnu hipoplaziju resica i ubrzano sazrijevanje resica. Hipoplazija distalnih resica definira se kao nedostatak resica u odnosu na okolne resice. Resice su tanke i relativno izduženog izgleda, a broj sincicijskih čvorića je povećan. Hipoplazija distalnih resica češće se viđa s MVM-om u ranoj trudnoći (<32 tjedna gestacije). Ubrzano sazrijevanje resica definira se kao prisutnost većeg broja terminalnih ogranaka korionskih resica uz povećan broj sincicijskih čvorova (59).



Slika 2. Mikroskopski prikaz akutne ateroze kao primjer MVM-a na povećanju 10x. (sliku ustupila mentorica doc.dr.sc. Zekić Tomaš)

1.2.4. Fetalna vaskularna malperfuzija

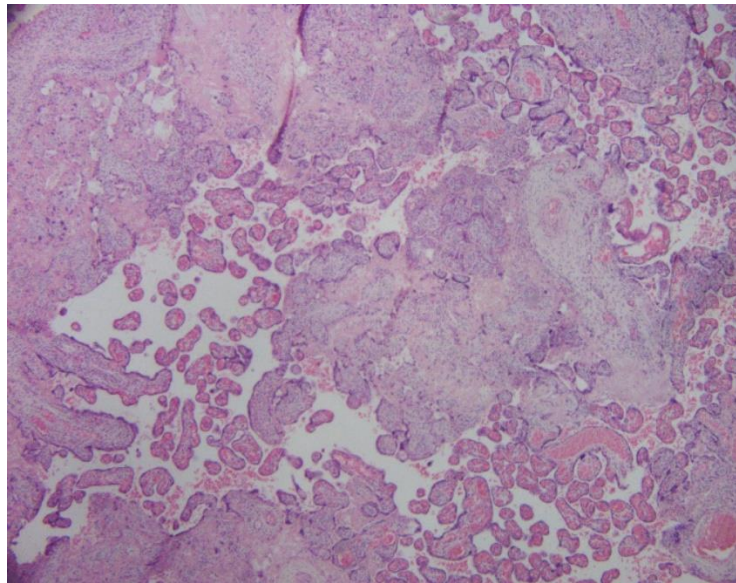
Fetalna vaskularna malperfuzija je pojam koji obuhvaća trombozu, segmentne avaskularne resice, stromalno-vaskularnu karioreksu resica i druge patohistološke promjene na posteljici kao što je vaskularno intramuralno taloženje fibrina, obliteracija krvnih žila/fibromuskularna skleroza i vaskularna ektazija. Za teške oblike FVM koristi se izraz FVM visokog stupnja. Lezije opisane pod ovim nazivom vjerojatno su posljedica opstrukcije fetalnog krvotoka, koja bi mogla biti posljedica brojnih stanja (npr. lezije pupkovine, hiperkoagulabilnost, komplikacije fetalne srčane disfunkcije kao što je hipoksija, itd.). Postoje dva obrasca FVM-a, a svaki može biti niskog ili visokog stupnja. Prvi je segmentni FVM, koji ukazuje na trombotičku okluziju korionskih ili matičnih resica ili obliteraciju matičnih krvnih žila (iako je distribucija lezija segmentalna, za očekivati je da će tromb ili opstrukcija rezultirati potpunom opstrukcijom resica nizvodno). Drugi oblik FVM-a je globalni FVM, koji ukazuje na djelomično začepljen protok krvi iz pupkovine s venskom ektazijom, intramuralnim taloženjem fibrina u velikim krvnim žilama i/ili malim žarištima avaskularnih ili kariorektnih resica (opstrukcija je djelomična ili povremena, ali lezije mogu biti raspoređene na većem volumenu posteljice). FVM visokog stupnja očituje se nalazom više od jednog žarišta avaskularnih resica sa ili bez tromba, ili dva ili više okluzivnih resica ili neokluzivni trombi u korionskoj ploči, ili višestruki neokluzivni trombi (59).



Slika 3. Mikroskopski prikaz neokluzivnog tromba u stem korionskoj resici. (sliku ustupila mentorica doc.dr.sc. Zekić Tomaš)

1.2.5. Nakupljanje periviloznog fibrina

Povećano taloženje periviloznog fibrina u posteljici je stanje koje karakteriziraju opsežne naslage fibrina u interviloznom prostoru, koje potencijalno ometaju funkciju izmjene trofoblasta i stoga pridonose disfunkciji posteljice. Makroskopski se prepoznaje kao nepravilni, bijelo-žućkasti plakovi u posteljici. Većina posteljica sadrži nešto periviloznog fibrina, koji se povećava s gestacijskom dobi. Povećano nakupljanje periviloznog fibrina bi se trebalo dijagnosticirati kada perivilozni fibrinoidni materijal uključuje 25% ili više resica (60).



Slika 4. Mikroskopski prikaz posteljice nakon COVID-19 infekcije s depozitima periviloznog fibrina na povećanju 4x. (sliku ustupila mentorica doc.dr.sc. Zekić Tomaš)

1.3. Niskomolekularni heparin- LMWH

Heparin je glikozaminoglikan koji sprječava stvaranje ugrušaka i širenje postojećih ugrušaka u krvi. Veže i aktivira inhibitor enzima antitrombin III (AT), koji zatim inaktivira trombin, faktor Xa i druge proteaze, čime inhibira koagulaciju (61). Niskomolekularni heparini (eng. low molecular weight heparin, LMWH) su spojevi izvedeni iz standardnog nefrakcioniranog heparina koji nude jasne kliničke prednosti u odnosu na nefrakcionirani heparin, uključujući bolju bioraspodivnost, duži poluživot i predvidljiviji antikoagulantni odgovor, koji uklanja potrebu za laboratorijskim praćenjem. Uobičajene nuspojave nefrakcioniranog heparina, uključujući krvarenje, trombocitopeniju i osteoporozu, mogu biti rjeđe s LMWH. Za liječenje

utvrđene venske tromboembolije, LMWH je jednako siguran i učinkovit, ako ne i bolji od nefrakcioniranog heparina. Kućna terapija s LMWH, u usporedbi s bolničkom terapijom nefrakcioniranim heparinom, daje usporedive kliničke ishode i zadovoljstvo pacijenata, uz dramatičnu uštedu troškova te je postala novi standard skrbi (62). Danas se LMWH terapija koristi u prevenciji krvnih ugrušaka i liječenju venske tromboembolije (duboka venska tromboza i plućna embolija) te u liječenju infarkta miokarda. Također se koristi kao preoperativna profilaksa. U kliničkim situacijama u kojima treba neutralizirati antitrombotski učinak LMWH koristi se protamin koji se veže na heparin i tako ga neutralizira. Osim antikoagulatnog djelovanja, LMWH ima i protuupalno i imunomodulacijsko djelovanje. Izlučuje se bubrezima. Ne može se primati oralnim putem jer se ne apsorbira u crijevima. Kontraindiciran je u svim stanjima kod kojih je povećana sklonost krvarenju (63).

1.3.1. Djelovanje LMWH i primjena u trudnoći

Kliničke implikacije ovih lijekova tijekom trudnoće uglavnom su povezane sa njihovim djelovanjem na placentu. Zbog velike molekularne težine, heparin ne prolazi placentarnu barijeru, pa se njegova primjena smatra sigurnom tijekom trudnoće i dojenja. Kao i za prevenciju i liječenje tromboembolije, LMWH je uvelike ispitivan za poboljšanje implantacije embrija i za prevenciju komplikacija povezanih s posteljicom kao što su preeklampsija, fetalna zastoja rasta i intrauterina smrt fetusa (64). Žene s antifosfolipidnim protutijelima i poviješću ili ranijih trombotičkih događaja ili gubitka trudnoće izložene su visokom riziku tijekom trudnoće za drugu fetalnu smrt ili trombozu i mogu imati koristi od liječenja LMWH (65). Korištenje LMWH tijekom implantacijskog prozora može poboljšati imunološku neravnotežu pacijenata s ponovljenim neuspjehom implantacije, što ga čini potencijalnom strategijom liječenja za pacijente s abnormalnim staničnim imunitetom (66).

1.3.2. RCOG smjernice u COVID-19 pandemiji

Trudnoća je, sama po sebi, hiperkoagulabilno stanje s povećanom proizvodnjom trombina i povećanjem intravaskularne upale pa ne čudi da tijekom trudnoće COVID-19 infekcija može imati dodatne ili sinergističke čimbenike rizika za trombozu kako tijekom trudnoće, tako i u postporođajnom razdoblju (67,68). Hiperkoagulabilnost u trudnoći određena je povišenim protrombotičkim čimbenicima (VII, VIII, X, XII, von Willebrandov faktor) i fibrinogenom. Uz to dolazi do sniženog S proteina i fibrinolize. Testovi koagulacije mogu se promijeniti,

stoga se fibrinogen i D-dimeri povećavaju, a aPTT skraćuje tijekom cijele trudnoće (69). Navedeno upućuje da bi COVID-19 mogao biti povezan sa stanjima hiperkoagulabilnosti koja rezultiraju uteroplacentalnom malperfuzijom. Kako bi se izbjegli tromboembolijski događaji i s njima povezana smrtnost, u studenom 2020. godine RCOG (engl. The Royal College of Obstetricians and Gynecologists) preporučuje da sve trudnice koje su primljene s potvrđenom COVID-19 infekcijom ili sumnjom na COVID-19 infekciju, trebaju primiti profilaktički heparin niske molekularne težine, osim ako se porod ne očekuje unutar sljedećih 12 sati (70).

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZE

Glavni cilj istraživanja bio je odrediti patohistološke karakteristike posteljica iz COVID-19 trudnoća s osvrtom na tromjesečje primoinfekcije i terapiju niskomolekularnim heparinom.

a) Istražiti postoji li razlika u morfološkim karakteristikama posteljica ovisno o tromjesečju trudnoće u kojem je majka bila zaražena sa COVID-19.

Očekivali smo da će postojati razlika u morfološkim promjenama u posteljici ovisno o tromjesečju infekcije.

b) Istražiti je li profilaktička primjena LMWH kod trudnica zaraženih sa COVID-19 imala utjecaja na morfološke karakteristike posteljica.

Očekivali smo da će profilaktička primjena LMWH djelovati "zaštitnički" te da u tim slučajevima virus neće dovesti do patoloških promjena na posteljici.

Sekundarni cilj istraživanja bio je odrediti je li za vrijeme COVID-19 pandemije došlo do porasta nepovoljnih ishoda trudnoća u KBC-u Split.

Očekivali smo da je COVID-19 pandemija imala nepovoljan utjecaj na ishode trudnoća.

3. MATERIJALI I METODE ISTRAŽIVANJA

3.1. Materijali

3.1.1. Prikupljanje podataka o trudnicama i posteljica iz skupine utjecaja tromjesečja COVID-19 infekcije i LMWH terapije na morfologiju posteljice

Ukupno je prikupljeno 104 posteljice roditelja koje su imale pozitivan PCR (engl. polymerase chain reaction) test na SARS CoV-2 u trudnoći, a rodile su u vremenskom razdoblju od 01.04.2021. do 01.09.2021. u KBC-u Split.

Težina infekcije COVID-19 okarakterizirana je kao: asimptomatska, blaga te umjerena i teška.

- Asimptomatska bolest opisana je kao odsutnost bilo kakvih kliničkih simptoma.
- Blagi prikaz bolesti uključivao je prisutnost jednog ili više simptoma kao što su vrućica, kašalj, bol u ždrijelu, glavobolja, mialgija, mučnina, povraćanje, proljev, anosmija, ali bez dispneje.
- Kriteriji za umjerenu prezentaciju bolesti bili su: dokaz bolesti donjeg dišnog sustava kliničkom procjenom ili slikom i zasićenost kisikom ($\text{SaO}_2 \geq 95\%$ na sobnom zraku).
- Teška klinička slika karakterizirana je kao jedan ili više simptoma između $\text{SaO}_2 \leq 95\%$ u okolnom zraku, $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$ mmHg (tj. parcijalni tlak kisika u arterijama/frakcija udahnutog kisika), brzina disanja $> 30/\text{min}$ ili upala pluća koja uključuje više od 50 % volumena pluća na rendgenskom pregledu.

Sve trudnice uključene u studiju imale su asimptomatsku do umjerenu kliničku sliku bolesti. Nije bilo trudnica s teškim oblikom bolesti. Naše istraživanje je bilo ograničeno na razdoblje dominacije alfa varijante SARS CoV-2, teški slučajevi s delta varijantom virusa su se pojavili kasnije u tijeku pandemije te nisu bili uključeni u studiju.

Na Klinici za ženske bolesti i porode KBC-a Split prikupljeni su podaci o dobi trudnice, graviditetu, paritetu, gestaciji, načinu dovršenja trudnoće, spolu, porođajnoj masi i duljini djeteta, tromjesečju u kojem je došlo do COVID-19 infekcije, težini simptoma infekcije, je li i koliko dugo trudnica primala LMWH te pridruženi komorbiditeti trudnica i eventualna patologija trudnoće.

Trudnoće su dalje podijeljene u dvije skupine na temelju primjene LMWH. Svim trudnicama savjetovano je liječenje LMWH-om, koje je u Hrvatskoj uvedeno kao tromboprolifaksa za trudnice zaražene COVID-19 u ožujku 2021. godine te je 30 (28,84%) trudnica u ovom istraživanju liječeno LMWH-om. Protokol KBC-a Split za trudnice s COVID-19 prilagođen je RCOG smjernicama (70). LMWH je uveden u terapiju COVID-19 pozitivnih trudnica na slijedeći način:

- gestacijska dob ≤ 32 tjedna tijekom 2 tjedna (u slučaju komorbiditeta 6 tjedana).
- trudnice sa 32 gestacijska tjedna i više nastavljaju liječenje do poroda.
- rodilje koje su vaginalno rodile nastavile su sa liječenjem LMWH dva tjedna.
- rodilje koje su rodile carskim rezom primale su LMWH šest tjedana nakon poroda.

Nijedna trudnica u našoj kohorti nije primila cjepivo protiv COVID-19.

3.1.2. Prikupljanje podataka o nepovoljnim ishodima trudnoća prije i za vrijeme COVID-19 pandemije

U drugom dijelu studije željeli smo istražiti utjecaj COVID-19 pandemije na nepovoljne ishode trudnoća. Ova presječna retrospektivna studija obuhvatila je sve trudnice koje su imale nepovoljan ishod trudnoće kao što su spontani pobačaj i intrauterina smrt ploda te rana neonatalna smrt u KBC-u Split. Podaci su prikupljeni na Kliničkom zavodu za patologiju, sudsku medicinu i citologiju i Klinici za ženske bolesti i porode KBC-a Split u vremenskom razdoblju od 1. ožujka 2019. do 1. ožujka 2021. Formirane su dvije skupine: „tijekom“ i „prije“ COVID-19 pandemije. Prva skupina „tijekom COVID-19 pandemije“ obuhvaćala je period u trajanju od godine dana počevši od 1. ožujka 2020. i tako predstavljajući početak pandemije u svijetu i Hrvatskoj, završno sa 1. ožujkom 2021. godine. Druga skupina "prije COVID-19 pandemije" je obuhvaćala godinu prije prve skupine te je trajala od 1. ožujka 2019. do 29. veljače 2020. godine. Ispitivane skupine su proširene podacima Nastavnog zavoda za javno zdravstvo na još jednu godinu prije pandemije i još jednu godinu tijekom pandemije, točnije od 1. ožujka 2018. do 1. ožujka 2022. godine. Kriteriji uključenja u studiju su bili: potpuni i nepotpuni pobačaji, intrauterina fetalna smrt i rana neonatalna smrt u prethodno navedenom vremenskom razdoblju. Rana neonatalna smrt uključivala je neonatalnu smrt unutar 7 dana od

dana poroda. Kriteriji za isključenje iz studije su bili slučajevi s nepotpunom medicinskom dokumentacijom i inducirani pobačaji iz bilo kojeg razloga.

Iz medicinske dokumentacije Klinike za ženske bolesti i porode KBC-a Split zabilježeni su sljedeći podatci: dob majke, gestacijska dob i povijest bolesti u vezi s prethodnim trudnoćama i pobačajima. Iz arhive medicinske dokumentacije Kliničkog zavoda za patologiju, sudsku medicinu i citologiju zabilježeni su podatci o intrauterinoj fetalnoj smrti i ranoj neonatalnoj smrti, a uključivali su spol fetusa, gestacijsku dob u tjednima, dob novorođenčeta ako se radilo o ranoj neonatalnoj smrti, kao i uzrok smrti, zajedno s općim podacima o majkama.

3.2. Metode

3.2.1. Obrada i patohistološki pregled posteljica

Posteljice su prikupljene ubrzo nakon poroda na Klinici za ženske bolesti i porode KBC-a Split, fiksirane u 4 % puferiranom formaldehidu i poslane na Klinički zavod za patologiju, sudsku medicinu i citologiju na daljnju analizu. Dva neovisna perinatalna patologa obavila su makroskopski pregled posteljica i histološku analizu. U izvješće su uključene sve makroskopske i mikroskopske karakteristike posteljica koje su dio uobičajenog patohistološkog izvješća za posteljice, a određene su po smjernicama Amsterdamskog protokola (59). Za potrebe istraživanja iz patohistološkog izvješća posebno su izdvojene i analizirane sljedeće lezije: maternalna vaskularna malperfuzija, fetalna vaskularna malperfuzija, upalne lezije viloznog stabla, povećano taloženje periviloznog fibrina i abnormalnosti sincicijalnih čvorića i abnormalnosti pupkovine. Protokole korištene u istraživanju je odobrilo Etičko povjerenstvo.

3.2.2. Klasifikacija nepovoljnih ishoda trudnoće

U drugom dijelu studije, nakon što su prikupljeni podaci iz medicinske dokumentacije na Klinici za ženske bolesti i porode i pismohrane Kliničkog zavoda za patologiju, sudsku medicinu i citologiju, isti su dalje obrađeni u tablicama uz korištenje programa Microsoft Excel gdje je napravljena dodatna analiza. ReCoDe (engl. Relevant Condition at Death) sustav klasifikacije obično se koristi za klasifikaciju mrtvorodenosti, u našem istraživanju korišten je za klasifikaciju uzroka smrti svih perinatalnih i neonatalnih smrti u ispitivanom razdoblju što je i prikazano u Tablici 1. (71-73). U istraživanje smo uključili potpune i nepotpune pobačaje, bez induciranih pobačaja, intrauterinu fetalnu smrt i ranu neonatalnu smrt. Rana neonatalna smrt uključivala je neonatalnu smrt unutar 7 dana od poroda. Pobačaj, koji se naziva i spontani

pobačaj, definiran je kao gubitak trudnoće prije 20 tjedana trudnoće, gdje je fetus težak manje od 500 grama i bez ikakvih vitalnih znakova, na primjer; puls, disanje i pulsiranje pupkovine. Sve smrti fetusa iza 20 tjedana trudnoće i iznad 500 grama su smatrane mrtvorodenošću.

Tablica 1. Perinatalna klasifikacija smrti prema ReCoDe sustavu klasifikacije.

grupa	podgrupa
A. Fetus	<ol style="list-style-type: none"> 1. Kongenitalne anomalije 2. Infekcija 3. Neimuni hidrops 4. Izoimunizacija 5. Fetomaternalno krvarenje 6. Sindrom fetu-fetalne transfuzije 7. Zastoj rasta fetusa
B. Pupčana vrpca	<ol style="list-style-type: none"> 1. Prolaps 2. Petlja ili čvor † 3. Velamentozna insercija 4. Ostalo
C. Posteljica	<ol style="list-style-type: none"> 1. Abrupcija 2. Placenta praevia 3. Vasa praevia 4. Ostala "placentarna insuficijencija" 5. Ostalo
D. Amnijska tekućina	<ol style="list-style-type: none"> 1. Korioamnionitis 2. Oligohidramnij 3. Polihidramnij 4. Ostalo
E. Maternica	<ol style="list-style-type: none"> 1. Rupture 2. Anomalije maternice 3. Ostalo
F. Majka	<ol style="list-style-type: none"> 1. Šećerna bolest 2. Bolesti štitnjače 3. Esencijalna hipertenzija 4. Hipertenzivne bolesti u trudnoći 5. Lupus ili antifosfolipidni sindrom 6. Kolestaza 7. Zloupotreba droga 8. Ostalo
G. Tijekom poroda	<ol style="list-style-type: none"> 1. Asfiksija 2. Porođajna trauma
H. Trauma	<ol style="list-style-type: none"> 1. Vanjski 2. Jatrogeni
I. Neklasificirano	<ol style="list-style-type: none"> 1. Nije identificirano relevantno stanje 2. Nema dostupnih informacija

3.2.3. Statistička obrada podataka

Prikupljeni podaci analizirani su IBM SPSS Statistics 20.0. Testirali smo normalnost raspodjele podataka te ovisno o rezultatima koristili smo sljedeće parametrijske i neparametrijske testove:

- *hi-kvadrat test*
- *Studentov t-test*
- *Mann-Whitney U test*
- *Anova*
- *Kruskal-Wallisov test*

U drugom dijelu pilot studije, nakon što su prikupljeni podaci iz medicinske dokumentacije na Klinici za ženske bolesti i porode i pismohrane Kliničkog zavoda za patologiju, sudsku medicinu i citologiju, isti su dalje obrađeni u tablicama uz korištenje programa Microsoft Excel gdje je napravljena dodatna analiza. ReCoDe (engl. Relevant Condition at Death) sustav klasifikacije obično se koristi za klasifikaciju mrtvorodenosti, u našem istraživanju korišten je za klasifikaciju uzroka smrti svih perinatalnih i neonatalnih smrti u ispitivanom razdoblju (71-73). Statistička analiza podataka provedena je pomoću softvera MedCalc (MedCalc software, Ostend, Belgija). Distribucija podataka procijenjena je Kolmogorov-Smirnovljevim testom. Za normalnu distribuciju podataka korišten je t-test, a za podatke bez normalne distribucije korišten Mann-Whitney U test. χ^2 -kvadrat test (također nazvan hi-kvadrat test) korišten je za procjenu kvalitativnih varijabli među različitim skupinama. Podaci se prikazuju kao aritmetička sredina sa standardnom devijacijom (SD) ili kao medijan s minimalnim i maksimalnim vrijednostima. Statistički značajna vrijednost postavljena je na $P < 0,05$.

4. REZULTATI

U Klinici za ženske bolesti i porode KBC-a Split, poštujući kriterije uključenja i isključenja iz studije, prikupljene su posteljice i podatci 104 roditelja koje su imale pozitivan PCR test na SARS CoV-2 u trudnoći. Obrada i analiza posteljica učinjena je na Kliničkom zavodu za patologiju, sudsku medicinu i citologiju Kliničkog bolničkog centra Split. Drugi dio istraživanja je obuhvaćalo period od 17 169 poroda, 1514 spontanih pobačaja te 174 slučaja mrtvorodenosti ili neonatalne smrti.

4.1. Usporedba opisnih podataka ovisno o primjeni LMWH terapije

Od ukupnog broja trudnica njih 40 (38,5%) zaraženo je u prvom tromjesečju trudnoće, 28 (26,9%) u drugom tromjesečju, odnosno 36 (34,6%) u trećem tromjesečju trudnoće. Na temelju upotrebe LMWH definirane su dvije ispitivane skupine: one koje su primale LMWH (LMWH+) i one koje nisu primale LMWH (LMWH-). Trideset (28,84%) trudnica primilo je LMWH, od kojih su 2 (6%) bile zaražene u prvom tromjesečju, 5 (17%) u drugom tromjesečju i 23 (77%) u trećem tromjesečju trudnoće. Opisni podaci ispitivanih skupina prikazani su u Tablici 2. Nije bilo statistički značajne razlike u načinu poroda ovisno o primjeni LMWH ($P=0,935$; $\chi^2=0,007$). Ispitivana skupina sa LMWH- imala je veći raspon gestacijske dobi pri rođenju (28–42 gestacijska tjedna) ($P=0,005$; $Z=2,840$) i veću porođajnu težinu od skupine s LMWH+ ($P=0,0302$; $Z=2,167$), što je bilo statistički značajno. Nije bilo statističke značajnosti u dobi roditelja ($P=0,639$; $t=-0,471$) i paritetu ($P=0,787$; $Z=0,270$) te duljini djece ($P=0,171$; $Z=1,370$). Također nije bilo statističke značajnosti u odnosima spolova ($P=0,271$; $\chi^2=1,211$).

Tablica 2. Opisni podatci ispitivanih trudnica ovisno o LMWH terapiji.

	LWMH + (N=30)	LWMH – (N=74)	P
Dob majke (godine)	30 ± 3,7	31 ± 4,6	0,639*
Paritet	I (40%) II (26,66%) III (33,33%)	I (33,78%) II (33,78%) III (29,72%)	0,787††
Gestacija (tjedni)	40 (32-41)	40 (28-42)	0,005†
Porod:			0,935††
Vaginalni	23 (78%)	59 (80%)	
Carski rez	7 (23%)	15 (20%)	
Spol:			0,271††
žensko	29 (39%)	16 (53%)	
muško	45 (61%)	14 (47%)	
Porodajna težina (grami)	3315 (950-4190)	3510 (620-5120)	0,030†
Porodajna dužina (centimetri)	51 (37-53)	51 (30-56)	0,171†

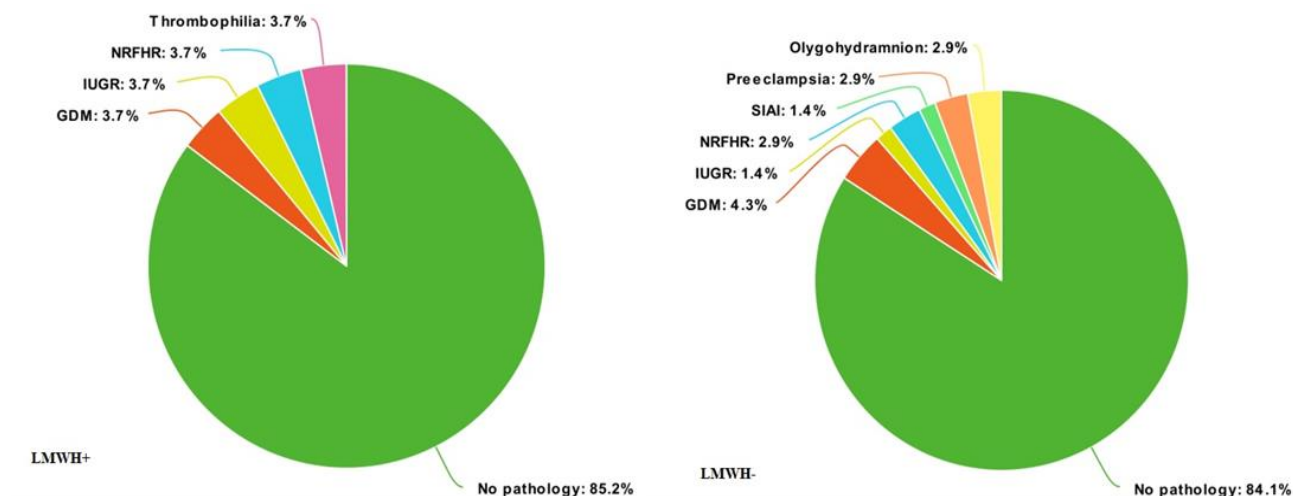
LMWH + skupina trudnica koja je primila LMWH

LMWH – skupina trudnica koja nije primila LMWH

*Studentov t-test; †Mann-Whitney U test; †† hi- kvadrat test

Patologije trudnoće kao što su trombofilija, gestacijski dijabetes melitus i intrauterini zastoje u rastu zabilježeni su u sedam slučajeva u LMWH+ skupini i u 16 slučajeva (gestacijski dijabetes melitus, preeklampsija i intrauterini zastoje u rastu) u LMWH- skupini, bez statističke značajnosti između skupina ($P=0,750$; $\chi^2=5,897$) te su prikazani na Slici 5. Komorbiditeti kao što su hipotireoza, sindrom iritabilnog crijeva, skvamozna intraepitelna lezija visokog stupnja i hemipareza, utvrđeni su kod ukupno osam trudnica.

Slika 5. Patologije trudnoće koje su zabilježene u ispitivanim skupinama: trudnice koje su primale LMWH tijekom trudnoće (LMWH+) i one koje nisu (LMWH-).



4.2. Morfološke karakteristike posteljica ovisno o primjeni LMWH terapije

Morfološke karakteristike proučavanih posteljica prikazane su u Tablici 3. Posteljice iz LMWH+ skupine imale su statistički značajno manju težinu od posteljica iz LMWH- skupine ($P=0,027$; $t=2,247$), a također nisu imale nijedan slučaj FVM, što se pokazalo statistički značajnim ($P=0,017$; $\chi^2=5,733$). Nije bilo razlika u omjeru težine fetusa/posteljice ($P=0,6$; $Z=0,524$), indeksu torzije pupčane vrpce ($P=0,973$; $Z=0,033$), MVM-u ($P=0,876$; $\chi^2=0,024$), taloženju periviloznog fibrina ($P=0,554$; $\chi^2=0,350$), pojačanom stvaranju sincicijskih čvorića ($P=0,887$; $\chi^2=0,020$), upalnom odgovoru fetusa ($P=0,636$; $\chi^2=0,223$) ili majke ($P=0,067$; $\chi^2=4,453$), kao ni vilitisu nepoznate etiologije (VUE) ($P=0,968$; $\chi^2=0,064$).

Tablica 3. Morfološke karakteristike posteljica ovisno o primjeni LMWH terapije.

	LMWH+	LMWH-	P
Težina posteljice (grami)	458±70	504±102	0,027*
Omjer težine fetus/posteljica	7 (2,05-9,37)	7 (3,8-10,18)	0,6†
Maternalna vaskularna malperfuzija	3 (10%)	5 (6,75%)	0,876††
Fetalna vaskularna malperfuzija	0	15 (20,27%) visoki stupanj 9 niski stupanj 6	0,017††
Indeks abnormalnog uvijanja pupkovine	4 (13,33%)	11 (14,86%)	0,973††
Taloženje periviloznog fibrina	5 (16,66%)	18 (24,32%)	0,554††
Pojačano stvaranje sincicijskih čvorića	9 (30%)	25 (33,78%)	0,887††
Upalni odgovor majke	6 (20%)	7 (9,45%)	0,067††
Upalni odgovor fetusa	1 (3,33%)	2 (2,7%)	0,636††
Vilitis nepoznate etiologije	4 (13,33%) visoki stupanj 2 niski stupanj 2	11 (14,86%) visoki stupanj 6 niski stupanj 5	0,968††

LMWH +: skupina trudnica koja je primala LMWH

LMWH -: skupina trudnica koja nije primala LMWH

*T-test; †Mann-Whitney U test; †† hi- kvadrat test

4.3. Morfološke karakteristike posteljica ovisno o tromjesečju COVID-19 infekcije

Rezultati razlike u morfološkim karakteristikama posteljica prema tromjesečju infekcije COVID-19 prikazani su u Tablici 4. Nije bilo statistički značajne razlike u sljedećim patohistološkim nalazima: MVM ($P=0,863$; $\chi^2=0,295$), indeks torzije pupčane vrpce ($P=0,205$; $\chi^2=5,197$), taloženje periviloznog fibrina ($P=0,122$; $\chi^2=4,2$), pojačano stvaranje sincicijskih čvorova ($P=0,237$; $\chi^2=2,880$), upalni odgovor majke ($P=0,493$; $\chi^2=1,472$), upalni odgovor fetusa ($P=0,479$; $\chi^2=1,472$) i VUE ($P=0,109$; $\chi^2=7,565$). Postojala je statistički značajna povezanost FVM-a s tromjesečjem infekcije ($P=0,020$; $\chi^2=7,8$). Stopa FVM u drugom tromjesečju je 2,9 puta veća nego u prvom tromjesečju i pet puta veća u drugom nego u trećem tromjesečju. Postoji statistički značajna korelacija na razini značajnosti od 94% ($P=0,060$; $\chi^2=7,85,6$) u povezanosti FVM s tromjesečjem infekcije, posebno za posteljice LMWH- skupine. Nismo pronašli statistički značajnu razliku u količini taloženja periviloznog fibrina prema tromjesečju infekcije, pa smo kombinirali rezultate taloženja periviloznog fibrina u drugom i trećem tromjesečju i usporedili ih sa prvim tromjesečjem; dali su statistički značajnu ($\chi^2=3,1$; $P=0,076$) povezanost periviloznog fibrina i tromjesečja infekcije na razini značajnosti od 92%. Količina taloženja periviloznog fibrina je 2,1 puta veća ako se infekcija COVID-19 dogodi u prvom tromjesečju u usporedbi sa drugim i trećim tromjesečjem zajedno.

Tablica 4. Morfološke karakteristike posteljica ovisno o tromjesečju COVID-19 infekcije

	Zabilježene lezije N(%)	I.tromjesečje N=40	II.tromjesečje N=28	III.tromjesečje N=36	P
Maternalna vaskularna malperfuzija	18 (17%)	7 (17%)	4 (14%)	7 (19%)	0,863
Fetalna vaskularna malperfuzija	14 (14%)	4 (10%)	8 (29%)	2(6%)	0,020
Indeks torzije pupčane vrpce	15 (14%)	4 (27%)	7 (46%)	4 (27%)	0,205
Taloženje periviloznog fibrina	23 (22%)	13 (33%)	5 (18%)	5 (14%)	0,122
Pojačano stvaranje sincicijskih čvorića	34 (33%)	16(40%)	10 (36%)	8 (22%)	0,237
Upalni odgovor majke	13 (12%)	3 (23%)	3 (23%)	7 (54%)	0,493
Upalni odgovor fetusa	3 (3%)	2 (67%)	0	1 (33%)	0,479
Vilitis nepoznate etiologije	15 (14%)	Visoki stupanj 0 Niski stupanj 3	Visoki stupanj 5 Niski stupanj 2	Visoki stupanj 3 Niski stupanj 2	0,109

Pregled kvalitativnih podataka i aritmetičkih sredina \pm SD ili medijana (Q1-Q3; min-max) kvantitativnih podataka u ukupnom uzorku.

Hi- kvadrat test, ANOVA; Kruskal-Wallis test

4.4. Opisni podatci ispitivanih trudnica i morfološke promjene posteljica ovisno o tromjesečju COVID-19 infekcije

Nije bilo statističke razlike u dobi majke ($F=1.2$; $P= 0.309$), paritetu ($\chi^2= 2.83$; $P= 0.586$), gestacijskoj dobi ($\chi^2= 0.226$; $P=0.893$), spolu ($\chi^2= 2.12$; $P= 0.346$), porođajnoj težini ($\chi^2= 0.497$; $P=0.780$) i duljini ($\chi^2= 0.270$ $P=0.874$) niti F/P ($F=0.796$; $P=0.454$) u odnosu na tromjesečje infekcije COVID-19, kao što je prikazano u Tablici 5. Distribucija prema načinu poroda se statistički značajno razlikovala u odnosu na tromjesečje infekcije ($\chi^2= 6.6$; $p= 0.0337$). Udio poroda carskim rezom, kada je infekcija nastupila u drugom tromjesečju, je 3,6 puta veći nego kada je infekcija bila u prvom tromjesečju. Stopa poroda carskim rezom, kada je infekcija nastupila u trećem tromjesečju, je 2,2 puta veća nego kod infekcije u prvom tromjesečju. Raspodjela trudnica prema korištenju LMWH bila je statistički značajno različita u odnosu na tromjesečje infekcije ($\chi^2=34$; $p<0.001$). Udio trudnica koje su primale heparin u trećem tromjesečju bio je 3,6 puta veći od udjela onih s infekcijom u drugom tromjesečju i 13 puta veći od udjela onih koje su imale infekciju u prvom tromjesečju. Razdioba ispitanica prema FVM (+/-) statistički se značajno razlikuje u odnosu na tromjesečje infekcije ($\chi^2=7.8$; $P= 0.020$). Najveća stopa promjena FVM-a primijećena je u posteljicama iz trudnoća sa preboljenom COVID-19 infekcijom u drugom tromjesečju. Svi porođaji carskim rezom obavljani zbog fetalne indikacije i u našoj kohorti nije bilo novorođenčadi s asfiksijom.

Tablica 5. Opisni podatci ispitivanih trudnica i morfološke promjene posteljica ovisno o tromjesečju COVID-19 infekcije

	I (40)	II (28)	III (36)	P
Dob majke (godine)	31,5 ±4	30,6±5	30±4	0,309**
Paritet				0,586*
1	12 (30%)	9 (32%)	16 (45%)	
2	13 (32%)	9 (32%)	12 (33%)	
>3	15 (38%)	10 (36%)	8 (22%)	
Gestacija (tjedni)	40 (35-42)	40 (28-42)	40 (32-42)	0,893†
Porod				0,037*
Vaginalni	36 (90%)	18 (64%)	28 (78%)	
Carski rez	4 (10%)	10 (36%)	8 (22%)	
Spol				0,346*
Ž	18 (45%)	9 (32%)	18 (50%)	
M	22 (55%)	19 (68%)	18 (50%)	
Porodajna masa (grami)	3480 (2340-5120)	3495 (620-4730)	3415 (950-4550)	0,780†
Porodajna dužina (centimetri)	50.5 (45-56)	51 (30-56)	51 (37-54)	0,874†
F/P	7,3 ±1,3	7,1±1,2	6.9±1.2	0,454**
FVM				0,020*
da	4 (10%)	8(29%)	2 (6%)	
ne	36 (90%)	20(71%)	34 (94%)	
LMWH				<0,001*
ne	38 (95%)	23 (82%)	13 (36%)	
da	2 (5%)	5 (18%)	23 (64%)	

*hi- kvadrat test; **ANOVA; † Kruskal-Wallis test

4.5. Demografski podatci pacijentica sa pobačajima prije i za vrijeme COVID-19 pandemije

U drugom dijelu istraživanja željeli smo ispitati nepovoljne ishode trudnoća za vrijeme COVID-19 pandemije i rezultate usporediti s onima prije nastupanja COVID-19 pandemije. Napravili smo pilot studiju te smo razdoblje od 1. ožujka 2019. do 29. veljače 2020. označili kao "skupina prije COVID-19 pandemije", dok smo razdoblje od 1. ožujka 2020. do 1. ožujka 2021. označili kao "skupina tijekom COVID-19 pandemije". Nepovoljni ishodi trudnoća dalje su podijeljeni na pobačaje (abortuse) i gubitke trudnoće koji su se dogodili nakon 21. gestacijskog tjedna i nadalje, uključujući ranu neonatalnu smrt. Potom smo odlučili istraživanje proširiti na period od 1. ožujka, 2018. do 1. ožujka, 2022. u svrhu dobivanja većeg uzorka. Istraživanje je također obuhvaćalo sve trudnice sa negativnim ishodom trudnoće u periodu pandemije bez obzira na SARS CoV-2 test. Razdoblje od 1. ožujka 2018. do 29. veljače 2020. označili smo kao "skupinu prije COVID-19 pandemije", dok smo razdoblje od 1. ožujka 2020. do 1. ožujka 2022. označili kao "skupinu tijekom COVID-19 pandemije". U navedenom periodu od dvije godine prije COVID-19 pandemije rođeno je 8623 djece, a u periodu od dvije godine za vrijeme pandemije 8546 djece. U cijelom razdoblju istraživanja zabilježeno je ukupno 1514 spontanih pobačaja, od čega se 801 pobačaj (52,9%) dogodio u periodu prije pandemije COVID-19, dok se 713 (47,1%) dogodio za vrijeme COVID-19 pandemije. Ostali demografski podaci prikazani su u Tablici 6. Nije bilo statistički značajne razlike u dobi majke, gestacijskom tjednu u trenutku pobačaja i učestalosti uobičajenih pobačaja između dvije ispitivane skupine. Većina pacijentica koje su imale spontani pobačaj u obje skupine nisu imale u anamnezi prethodnu trudnoću. U periodu tijekom COVID-19 pandemije došlo je do statistički značajnog povećanja pacijentica koje su bile trudne barem jednom ili dva puta prije ovog pobačaja u usporedbi sa pacijenticama u periodu prije COVID-19 ($\chi^2=30,603$; $P=0,0002$). Isto tako, pacijentice koje su imale spontani pobačaj tijekom COVID-19 pandemije imale su veću učestalost prethodnog poroda i prethodnog spontanog pobačaja u usporedbi sa pacijenticama koje su imale spontani pobačaj prije pandemije COVID-19 ($\chi^2=20,493$; $P=0,005$) ($\chi^2=11,590$; $P=0,041$). Podatci za paritet i prethodni pobačaj u skupini „prije COVID-19 pandemije“ nedostaju za jednu trudnicu te za paritet dvije trudnice u skupini „tijekom COVID-19 pandemije“ i nisu uvršteni u statističku obradu podataka.

Tablica 6. Demografski podatci pacijentica sa pobačajima prije i tijekom COVID-19 pandemije.

	prije COVID-19 N=801	tijekom COVID-19 N=713	P
Dob majke (godine)	32 (16-46)	33 (15-49)	<0,057†
Gestacijski tjedan u trenutku pobačaja	9 (4-21)	9 (4-22)	<0,012†
Graviditet			
0	503 (62,8%)	361 (50,8%)	<0,0002††
1	156 (19,5%)	185 (26%)	
2	96 (12%)	104 (14,6%)	
3	25 (3,1%)	45 (6,3%)	
4	13 (1,6%)	9 (1,3%)	
5	5 (0,6%)	2 (0,3%)	
6	3 (0,4%)	3 (0,4%)	
7	0	1 (0,1%)	
8	0	1 (0,1%)	
Paritet			
0	515 (64,4%)	388 (54,6%)	<0,005††
1	155 (19,4%)	178 (25%)	
2	91 (11,4%)	102 (14,3%)	
3	21 (2,6%)	32 (4,5%)	
4	11 (1,4%)	6 (0,8%)	
5	5 (0,6%)	3 (0,4%)	
6	2 (0,3%)	1 (0,1%)	
7	0	1 (0,1%)	
Prethodni pobačaj(i)			
0	721 (90,1%)	663 (93%)	<0,041††
1	57 (7,1%)	30 (4,2%)	
2	11 (1,4%)	16 (2,2%)	
3	7 (0,9%)	4 (0,6%)	
4	3 (0,4%)	0	
6	1 (0,1%)	0	
Habitualni pobačaji	11 (1,4%)	5 (0,7%)	<0,202††

†Mann-Whitney U test

††hi- kvadrat test

4.6. Demografski podatci za fetalnu i neonatalnu smrt u odnosu na COVID-19 pandemiju

U Tablici 7. su prikazani demografski podatci za fetalnu i neonatalnu smrt u odnosu na COVID-19 pandemiju, koje smo dobili proširivanjem uzorka. U periodu od dvije godine prije COVID-19 pandemije bilo je ukupno 87 fetalnih i neonatalnih smrti, isto kao i u periodu tijekom COVID-19 pandemije. Nije bilo statistički značajne razlike između ispitivanih skupina obzirom na gestacijsku dob ($t=0,649$; $P=0,489$), spol ($\chi^2=0,208$; $P=0,649$) i mrtvorodenost ($\chi^2=0,023$; $P=0,879$). U obje skupine je bilo statistički značajno više novorođenčadi čija se smrt klasificira kao rana ($\chi^2=5,538$; $P=0,019$). U skupini prije COVID-19 pandemije preminulo je 44 novorođenčadi muškog spola i 43 ženskog spola, bez statističke značajnosti u razlici spolova između dvije ispitivane skupine ($\chi^2=0,208$, $P=0,649$). U skupini prije COVID-19 pandemije bilo je 39 (44,8%) mrtvorodenčadi, jednako kao i u drugoj ispitivanoj skupini ($\chi^2=0,023$, $P=0,878$). U skupini prije COVID-19 pandemije zabilježene su 34 rane neonatalne smrti te 13 kasnih neonatalnih smrti, a u drugoj skupini 44 rane neonatalne smrti i 4 kasne neonatalne smrti, što se pokazalo statistički značajnim ($\chi^2=4,172$, $P=0,041$).

Tablica 7. Demografski podatci za fetalnu i neonatalnu smrt u odnosu na COVID-19 pandemiju.

	prije COVID-19 N=87	tijekom COVID-19 N=87	<i>P</i>
Gestacija (tjedni)	28±5	27±6	0,489†
Spol M:Ž	44:43	48:39	0,649*
Mrtvorodenost	39	39	0,879*
Neonatalna smrt	rana 34 kasna 14	rana 44 kasna 4	0,019*

*Studentov t-test

†hi- kvadrat test

4.7. Klasifikacija perinatalne smrti prema ReCoDe klasifikaciji i COVID-19 pandemiji

Uzroci perinatalne smrti klasificirani su prema klasifikacijskom sustavu ReCoDe te su rezultati prikazani u Tablici 8. Nije bilo statistički značajne razlike obzirom na uzrok smrti prema ReCoDe klasifikaciji između skupine prije COVID-19 pandemije i skupine za vrijeme COVID-19 pandemije ($\chi^2=9,807$; $P=0,133$). Najčešći uzrok smrti u obje skupine je bila kategorija fetus i amnijska tekućina, dok u kategoriji uterus i trauma nije zabilježen nijedan slučaj. U kategoriji fetusa najčešća podgrupa u obje skupine je bila podgrupa kongenitalnih malformacija, a najrjeđe je zabilježen IUZR, što nije bilo statistički značajno ($\chi^2=0,389$; $P=0,983$). Najčešća podgrupa u grupi uzroka smrti zbog pupčane vrpce u obje skupine je bila postojanje čvora pupčane vrpce, što nije bilo statistički značajno ($\chi^2=0,367$; $P=0,545$). Najčešća podgrupa uzroka smrti zbog posteljice u skupini prije COVID-19 pandemije je bila podgrupa ostalo, a u drugoj ispitivanoj skupini podgrupa posteljična induficijencija, što nije bilo statistički značajno ($\chi^2=3,416$; $P=0,332$). U grupi uzroka smrti koji se klasificiraju kao amnijska tekućina u obje skupine je jedina podgrupa bila majčin upalni odgovor, što nije bilo statistički značajno ($\chi^2=0,481$; $P=0,488$). U skupini za vrijeme COVID-19 pandemije zabilježene su 4 smrti kao posljedica bolesti majke, od čega 2 dijabetesa u trudnoći i jednak broj hipertenzija u trudnoći, dok u skupini prije COVID-19 pandemije nije zabilježen nijedan slučaj, što nije bilo statistički značajno ($\chi^2=0,500$; $P=0,788$). U obje ispitivane skupine zabilježen je po jedan slučaj asfiksije za vrijeme poroda u grupi uzroka smrti kao posljedica poroda, što nije bilo statistički značajno ($\chi^2=0,500$; $P=0,479$). U obje ispitivane skupine nije zabilježena nijedna trauma kao uzrok smrti. Nije bilo statistički značajne razlike između ispitivanih skupina u grupi uzroka smrti koji se definiraju kao neklasificirani ($\chi^2=0,883$; $P=0,347$).

Tablica 8. Klasifikacija perinatalne smrti prema ReCoDe klasifikaciji i COVID-19 pandemiji.

ReCoDe kategorije	prije COVID-19 N=87	tijekom COVID-19 N=87	<i>P</i>
Fetus	30 (34,5%)	20 (23%)	NS*
Kongenitalne malformacije	13	10	
Perinatalna infekcija	12	7	
IUZR	1	1	
"Twin-Twin" sindrom	2	1	
Neimuni hidrops	2	1	
Pupčana vrpca	6 (6,9%)	13 (15%)	
Petlja ili čvor	6	10	
Ostalo	0	3	
Posteljica	16 (18,4%)	20 (23%)	
Abrupcija	3	3	
Placenta previa	0	1	
Vasa previa	0	0	
Posteljična insuficijencija	6	12	
Ostalo	7	4	
Amnijska tekućina			
Korioamnionitis	29 (33,3%)	23 (26,4%)	
Maternica	0	0	
Majka	0	4 (4,6%)	
Za vrijeme poroda	1 (1,1%)	1 (1,1%)	
Asfiksija			
Trauma			
Trauma	0	0	
Neklasificirano	5 (5,7%)	6 (6,9%)	
Nema značajnog nalaza	1	4	
Nedovoljno informacija	4	2	

*hi- kvadrat test

5. RASPRAVA

COVID-19 pandemija je u proteklih nekoliko godina imala velik utjecaj na čovječanstvo, u kojem su trudnice i djeca uvijek najosjetljivija skupina. Od početka pandemije objavljeni su brojni radovi na temu COVID-19 infekcije i trudnoće, ali ni jedan rad nije prikazao važnost trenutka u kojem je infekcija nastala u trudnoći i utjecaj istog na morfološki izgled posteljice te posljedično na fetus. Terapija niskomolekularnim heparinom je uvedena u smjernice liječenja COVID-19 pozitivnih trudnica bez konkretnih istraživanja i radova na tu temu, a smjernice su tijekom pandemije izmijenjivane. Pandemija je donijela mnoge restrikcije što je rezultiralo otežanim pružanjem medicinske skrbi svima pa i trudnicama, čime se povećala mogućnost nepovoljnog tijeka i ishoda trudnoće. S obzirom na mali broj radova o utjecaju COVID-19 infekcije na morfološke karakteristike posteljica te na nepovoljne ishode trudnoće, a imajući u vidu veliki javno zdravstveni problem koji je pandemija uzrokovala, željeli smo pobliže istražiti navedno. Prema našim saznanjima, naše istraživanje prvo je koje opisuje morfološke promjene posteljice ovisno o tromjesečju infekcije COVID-19 i jedino koje razmatra liječenje LMWH-om također ovisno o tromjesečju infekcije COVID-19.

Do sada je nekoliko studija opisalo histologiju posteljica žena pozitivnih na COVID-19 i nisu pronađeni patognomonični histološki obrasci kao što je prikazano u istraživanju Sharpsa i suradnika (57). Najčešći nalazi bili su MVM, FVM i povećano taloženje periviloznog fibrina (50,53,54,57,58). Istraživanja posteljica nakon COVID-19 infekcija u prvom tromjesečju su rijetka, a svi prikazani slučajevi su završili spontanim pobačajem (74-76). Patohistološke karakteristike posteljica zahvaćenih COVID-19 u drugom tromjesečju također su opisane u nekim radovima (47,77-79). Većina studija opisuje morfološke promjene posteljice kod majki zaraženih COVID-19 u trećem tromjesečju (47,48,55,58,80-89). Naša studija je također pokazala gore navedene lezije posteljice, ali u odnosu na tromjesečje infekcije pojedinačno. Naše istraživanje je pokazalo veću pojavnost FVM-a, ako je početak infekcije bio u drugom tromjesečju. Udio FVM u drugom tromjesečju je 2,9 puta veći nego u prvom tromjesečju i pet puta veći nego u trećem tromjesečju. Učestalost specifičnih promjena poput FVM-a (15%) bila je veća u posteljicama s preboljenom COVID-19 infekcijom u usporedbi s "normalnim" kontrolama (5%) prema Hechtu i sur. (90). Veća pojavnost FVM-a je opisana u još nekim radovima, ali bez korelacije sa tromjesečjem infekcije (84,91). Nadalje, FVM je zabilježen samo u posteljicama iz LMWH- skupine, a niti jedan slučaj FVM-a nije pronađen kod trudnica

koje su primale LMWH bez obzira na tromjesečje infekcije, duljinu liječenja LMWH-om niti koliko je dana prošlo od infekcije do poroda. FVM, prethodno nazivan fetalnom vaskularnom trombopatijom, obuhvaća nekoliko lezija uključujući trombotsku okluziju korionskih ili matičnih resica i obliteraciju matičnih žila, kao i područja avaskularnih resica (59). Etiologija FVM-a još se istražuje, ali dokazi ukazuju na nekoliko uzroka, uključujući opstrukciju fetalnog krvotoka iz bilo kojeg razloga (npr. patološki indeks torzije pupčane vrpce), hiperkoagulabilnost i hipoksiju. S ove točke gledišta teško je objasniti utjecaj LMWH na pojavu FVM-a, posebice s obzirom na činjenicu da LMWH ne prolazi placentalnu barijeru (92). Odgovor bi mogao ležati u dobrobitima koje LMWH ima na majku, uglavnom antitrombotičnim i protuupalnim svojstvima na majčini krvnim žilama što rezultira poboljšanjem cirkulacije, a neizravno bi se mogla odraziti i na posteljicu. Ovu bi tezu mogao potkrijepiti prikazani podatak iz našeg istraživanja o višim stopama FVM-a u posteljicama iz LMWH- skupine u usporedbi s LMWH+, iako to nije bilo statistički značajno.

Prethodne studije su izvijestile o povećanju taloženja periviloznog fibrina u posteljici tijekom trudnoća s COVID-19 infekcijom (86,93). Naše istraživanje sugerira da je pojava taloženja periviloznog fibrina 2,1 puta veća ako se infekcija COVID-19 dogodila u prvom tromjesečju u usporedbi s drugim i trećim tromjesečjem zajedno. Perivilozni fibrin je znak oštećenja trofoblasta bilo kojeg uzroka. Vjeruje se da je pretjerano taloženje periviloznog fibrina patološka imunološka reakcija i opisano je u vezi s različitim patologijama poput preeklampsije, HELLP sindroma (engl. Hemolysis, Elevated Liver enzymes and Low Platelets Syndrome) i ponekad kod virusnih infekcija u trudnoći (94-96). Hsu L. i suradnici pokazali su prisutnost SARS-CoV-2 u trofoblastu primjenom imunohistokemije (80). Debelenko i suradnici potvrdili su da se SARS-CoV-2 može identificirati u tkivu posteljice u iznimno rijetkim slučajevima, međutim virusne čestice mogu prenositi majčini makrofagi u intervilozni prostor gdje imaju potencijal pričvrstiti se na trofoblast i uništiti ga, uzrokujući akutni te kronični intervilozitis (97). Ova otkrića sugeriraju da bi sam virus mogao izravno oštetiti trofoblast uzrokujući odgovor placente u obliku periviloznog taloženja fibrina. Naši rezultati o taloženju periviloznog fibrina ukazuju na važnost vremena infekcije COVID-19. Raniji nastup infekcije povećava šanse za oštećenje trofoblasta i prekomjerno taloženje periviloznog fibrina. Iako razlika između LMWH+ i LMWH- skupine u vezi s taloženjem periviloznog fibrina nije bila značajna, važno je naglasiti da je 24% placenti u LMWH-skupini u usporedbi s 16%

posteljica iz LMWH+ skupine imalo povećanje periviloznog taloženja fibrina. Slično nalazima periviloznog fibrina, pretjerano stvaranje sincicijskih čvorića također je bilo češće u posteljicama iz LMWH- skupine u usporedbi s posteljicama iz LMWH+ skupine i ako se infekcija dogodila u prvom tromjesečju trudnoće. Iako potonje nije bilo statistički značajno, također podupire tezu da je oštećenje trofoblasta teže ako se infekcija dogodi u ranoj trudnoći, budući da je pretjerano stvaranje sincicijskih čvorića čest nalaz kad god postoji oštećenje trofoblasta ili životnog ciklusa trofoblasta, npr. kod preeklampsije i HELLP sindroma (98,99). Bez obzira na tromjesečje infekcije COVID-19, sve su posteljice imale vrlo sličan omjer težine fetusa i posteljice i nije bilo statističke razlike u porođajnoj težini. Slični rezultati opisani su ranije u literaturi (91,100,101). Dodatni rezultati predstavljene studije bili su statistički značajna niža porođajna težina popraćena nižom težinom posteljice, kao i manji raspon gestacijske dobi u LMWH+ skupini u usporedbi s LMWH- skupinom, međutim nije bilo razlike u omjeru težine fetusa i posteljice prilagođenom za gestacijsku dob, stoga vjerujemo da su ovi nalazi slučajni. Tasca i suradnici izvješćuju da je šest od 64 trudnica s infekcijom COVID-19 liječenih LMWH-om imalo teže posteljice, ali ne i kvalitetnije od neliječenih, budući da se omjer težine fetusa i posteljice nije razlikovao (54). Imali smo uzorak od trideset žena liječenih LMWH. Nismo pronašli statistički značajnu razliku u gestaciji u odnosu na tromjesečje infekcije. Pet žena je prijevremeno rodilo, mrtvordenost nije zabilježena, kao što je to bio slučaj u nekim do tada objavljenim radovima (101-103). Rebutini i sur. impliciraju da je vjerojatnije da će trudnice sa simptomatskom COVID-19 infekcijom, osobito s teškim tijekom bolesti, imati nepovoljan fetalni ishod (91), a Schwartz i sur. izvješćuju o povećanom riziku za mrtvorodenče osobito u razdoblju prevlasti delta varijante (104). U ovoj studiji trudnice su bile asimptomatske ili s blagim simptomima i zaražene alfa varijantom. Di Girolamo i sur. u svom izvješću o sustavnom pregledu i meta-analizi u studiji iz Ujedinjenog Kraljevstva, koja je uključivala >3000 trudnoća navodi da je mrtvorodenost bila znatno češća u žena s infekcijom nego u žena bez infekcije (43). Bertero i sur. izvješćuju da je prijevremeni porod najčešći nepovoljni neonatalni ishod infekcije COVID-19 (105). Distribucija prema načinu poroda bila je statistički značajno različita u odnosu na tromjesečje infekcije. Udio carskih rezova kod kojih se infekcija COVID-19 pojavila u drugom tromjesečju je 3,6 puta veća nego da je infekcija bila u prvom tromjesečju. Udio carskih rezova s infekcijom u trećem tromjesečju je 2,2 puta veći nego s infekcijom u prvom tromjesečju. Od 104 pregledane

trudnice nijedna nije imala respiratornu insuficijenciju i nijedna nije hospitalizirana zbog infekcije COVID-19. Sve uključene trudnice bile su asimptomatske ili s blagim simptomima prve alfa varijante COVID-19 kako je već navedeno. Ova relativno veća stopa carskih rezova reflektirala bi se kao uloga straha od vertikalnog prijenosa posebice jer su ispitane trudnice bile zaražene i rodile u prvom valu pandemije COVID-19, kada se o samoj bolesti i utjecaju na fetus i majku relativno malo znalo, kako navode Mirbeyk i sur. (106). Nismo pronašli statističku razliku u načinu poroda u odnosu na LMWH. Distribucija ispitanika prema korištenju LMWH bila je statistički značajno različita u odnosu na tromjesečje infekcije. Velika većina ispitanica koje su primale LMWH imale su infekciju COVID-19 u trećem tromjesečju, nakon toga u drugom tromjesečju i najmanje u prvom tromjesečju. To možemo objasniti činjenicom da je LMWH u našoj zemlji uveden kao profilaksa za trudnice zaražene COVID-19 u ožujku 2021. godine, a podaci su prikupljeni u razdoblju od travnja do rujna 2021. To bi značilo da sve žene koje su rodile u prvim mjesecima naše studije i imale su COVID-19 u prvom tromjesečju, uopće nisu primale LMWH. Logično je da je iz istog razloga većina žena primila LMWH s infekcijom u trećem tromjesečju. To objašnjava i zašto je "samo" 30 od 104 ispitanih primalo LMWH.

Na početku pandemije COVID-19, liječnici i istraživači izrazili su zabrinutost da će infekcija COVID-19 imati negativan utjecaj na trudnice i njihovu nerođenu djecu. Cijeli zdravstveni sustav bio je preopterećen što je rezultiralo smanjenom dostupnošću medicinskog osoblja općoj populaciji, uključujući i trudnicama. Isto tako, sama pandemija negativno je utjecala na mentalno zdravlje diljem svijeta, a podjednako su pogođene i trudnice. Uzimajući to u obzir, naš drugi dio studije imao je za cilj istražiti nepovoljne ishode trudnoće prije pandemije i usporediti rezultate s onima tijekom pandemije te smo prvo napravili pilot studiju (107). Pilot studija je uključivala nepovoljne ishode trudnoća godinu prije pandemije u odnosu na prvu godinu pandemije. U KBC-u Split sve trudnice koje su imale medicinski pobačaj tijekom trajanja COVID-19 prije prijema testirane su na SARS-CoV-2. Međutim, samo su dvije pacijentice bile pozitivne u vrijeme pobačaja. Studiju smo proširili na još jednu godinu prije i jednu godinu tijekom COVID-19 pandemije. Time smo uduplali uzorak te od ukupnog broja od 17 169 poroda u navedenom periodu smo dobili uzorak od 1514 spontanih pobačaja te 174 slučaja mrtvorodenosti ili neonatalne smrti. U cijelom istraživanom razdoblju zabilježeno je ukupno 1514 spontanih pobačaja, od čega se 801 pobačaj (52,9%) dogodio u periodu prije

pandemije COVID-19, dok se 713 (47,1%) dogodio za vrijeme COVID-19 pandemije. Nešto manji broj spontanih pobačaja tijekom pandemije COVID-19 kao jedan od ključnih rezultata može odražavati činjenicu da su u to vrijeme smanjeni i posjeti ginekologu. Žene su svoj rani pobačaj mogle zamijeniti sa menstruacijom i zbog toga to nisu prijavile svom liječniku opće prakse ili ginekologu. Osim toga, tijekom pandemije COVID-19 prijem u bolnicu bio je ograničen, a resursi smanjeni, pa su, ako je bilo moguće, slučajeve s nekomplikiranim pobačajem rješavali ginekolozi primarne zdravstvene zaštite. Povećani rizik od prijenosa COVID-19 u zdravstvenim ustanovama potencijalno je bio još jedan rizik koji neke trudnice nisu željele prihvatiti. Stoga je moguće da su neke žene imale rani pobačaj, a da toga nisu bile svjesne, što je rezultiralo time da nisu potražile liječničku pomoć, što je onda rezultiralo izostankom medicinskog izvješća o pobačaju (19,20,108,109). Rotshenker-Olshinka i suradnici također su izvijestili kako se čini da okruženje pandemije COVID-19 ne utječe na rane stope pobačaja u prvom tromjesečju (110). Naše je istraživanje pokazalo da u obje ispitivane skupine većina ispitanica, koje su imale spontani pobačaj, nije imala prethodnu trudnoću u opstetričkoj anamnezi. Tijekom godine pandemije COVID-19 zabilježen je statistički značajan porast žena koje su bile trudne barem jednom ili dva puta prije ovog pobačaja. Ovi podatci mogu se pripisati činjenici da su žene, koje su imale prethodnu trudnoću, bolje upoznate s različitim simptomima i znakovima koji se javljaju u ranoj trudnoći, te je kao rezultat toga vjerojatnije da će po potrebi potražiti liječničku pomoć. To zauzvrat povećava vjerojatnost da će pobačaj biti zabilježen u medicinskoj dokumentaciji i da neće ostati nedokumentiran. Potonje bi također moglo objasniti činjenicu da je tijekom pandemije primijećena veća učestalost žena sa prethodnim porodom i pobačajem u anamnezi u skupini žena koje su imale pobačaj usporedno s skupinom prije pandemije. Nije bilo statistički značajne razlike u tjednu gestacije u vrijeme pobačaja uspoređujući skupinu prije pandemije COVID-19 sa skupinom tijekom pandemije COVID-19. Također, nije bilo statistički značajne razlike u dobi majke ili učestalosti habitualnih pobačaja. Ovakvi rezultati su očekivani s obzirom na to da su prethodno navedeni podaci obično konstantni i da se obično ne mijenjaju često, posebice s manjim uzorkom te kratkim i ograničenim vremenskim razdobljem. U sustavnom pregledu bilježi se porast stope mrtvorodenih tijekom pandemije za razliku od razdoblja prije pandemije, te je zaključeno da je to posljedica zakazivanja zdravstvene skrbi zbog pandemije COVID-19 (25). Ova spomenuta studija je u suprotnosti sa studijom

provedenom u Sjedinjenim Američkim Državama, koja je tvrdila da je stopa mrtvorodenosti prije pandemije COVID-19 bila vrlo slična incidenciji tijekom pandemije (111). Naše je istraživanje u skladu sa prethodno spomenutim jer nije uočena statistički značajna razlika u ispitivanim skupinama u učestalosti mrtvorodenosti. Također, jedan od ključnih rezultata jest da nije uočena značajna razlika u incidenciji rane i kasne neonatalne smrti. Siddiqui i Najam također spominju kako je stopa intrauterine fetalne smrti i neonatalne smrti bila manje učestala tijekom pandemije (112). Zaključno, naše istraživanje pokazuje da pandemija COVID-19 i sa njom povezani stresni i negativni učinci te povećani obim posla zdravstvenog osoblja nisu utjecali na trudnice koje su zatražile liječničku pomoć u KBC-u Split. Usprkos izazovima koje je donijela pandemija, trudnice KBC-a Split nastavile su primati odgovarajuću zdravstvenu skrb te nisu bile izložene većem riziku od pojave mrtvorodene djece ili rane neonatalne smrti kao posljedice pandemije. Nadalje, mrtvorodenost se definira nakon navršenog 20. tjedna gestacije. Većina budućih majki svjesna je svoje trudnoće i stoga odlazi na rutinske liječničke preglede, što može pridonijeti smanjenju učestalosti mrtvorodenosti (25,111). Kao što Hayakawa primjećuje, čovječanstvo je razvilo novo oružje protiv infekcije na temelju mikrobiologije, imunologije i molekularne biologije. S ovim oružjem uspjeli smo se boriti protiv novih neprijatelja u kliničkim arenama opstetricije i kontrole zaraznih bolesti brzinom i preciznošću neusporedivom s onima s početka 20. stoljeća (113). Nadalje, primijetili smo da tijekom godine pandemije niti jedna trudnica nije bila pozitivna na infekciju COVID-19 u trenutku potvrde mrtvorodenčeta. No, valja napomenuti da je tijekom ovog istraživanja bilo trudnica zaraženih SARS-CoV-2 na odjelu ginekologije i opstetricije u bolnici, kao i izvan bolnice, ali niti jedna od tih trudnoća nije završila mrtvorodenčetom. Ovo dodatno naglašava kvalitetnu skrb koju je KBC Split pružao trudnicama tijekom pandemije (111). Uzrok perinatalne smrti, klasificiran klasifikacijskim sustavom ReCoDe, nije pokazao statistički značajnu razliku između ispitivanih skupina. Dok se ReCoDe klasifikacijski sustav obično koristi za kategorizaciju mrtvorodene djece, u ovoj studiji korišten je za klasifikaciju svih perinatalnih slučajeva, uključujući ranu neonatalnu smrt. Uspjeli smo dodijeliti svaki slučaj u kategoriju ReCoDe bez značajne disperzije podataka. Budući da sustavi klasifikacije koji se koriste za perinatalnu smrt imaju mnogo kategorija i podkategorija, a koriste se za statistiku perinatalne smrti na nacionalnoj razini s velikom studijskom grupom i uključuju mnogo slučajeva, bilo bi neprikladno koristiti ih u našoj studiji zbog manjeg broja slučajeva

perinatalne smrti. Međutim, prema nacionalnim podacima, fetalna kategorija, točnije potkategorija „intrauterini zastoj rasta” glavni je uzrok perinatalne smrti. Naša studija proturječi tome pokazujući da kategorija "amnionska tekućina" i njena potkategorija "korioamnionitis" čine većinu perinatalnih smrti u skupini prije i tijekom pandemije COVID-19. Štoviše, nacionalni podaci opisuju da je, kada se koristi ReCoDe sustav klasifikacije, samo 15% svih mrtvorodenih djece klasificirano kao nepoznato. Naša studija pokazuje još bolji rezultat s 5,7% klasificiranih kao nepoznato godinu dana prije pandemije COVID-19 i 6,9% tijekom pandemije (71-73). Dobili smo statistički značajnu razliku između rane i kasne neonatalne smrti. Tu promjenu tumačimo povećanjem uzorka studije, a samim time i povećanjem broja rano neonatalno umrlih, koji je ionako dosta veći od kasno neonatalno umrlih, a povećanjem uzorka dolazi do vidne razlike te statističke značajnosti.

Naše istraživanje je obuhvatilo samo jednu ustanovu (tj. KBC Split) i unatoč tome što se radi o terciarnom centru koji pokriva veliko područje i unatoč ukupnom broju od 17 169 poroda u četiri godine, smatramo da bi u studiju trebalo uključiti više bolničkih centara.

6. ZAKLJUČCI

1. Naša studija je prva koja opisuje morfološke promjene u posteljici u odnosu na tromjesečje infekcije COVID-19 i primjenu LMWH.
2. Pojava FVM-a bila je statistički značajno veća ako je početak infekcije bio u drugom tromjesečju.
3. Nalaz periviloznog fibrina u posteljici bilo je najvjerojatniji, ako je infekcija COVID-19 započela u prvom tromjesečju trudnoće.
4. FVM se nije pojavila ni u jednoj posteljici trudnica koje su primale LMWH.
5. Uzevši u obzir rezultate našeg istraživanja, možemo zaključiti da tromjesečje infekcije COVID-19 ima utjecaj na oštećenje trofoblasta, a time i na morfološki izgled posteljice.
6. LMWH, iako je u potpunosti koristan za majku, ne utječe na promjene u morfologiji posteljice osim FVM-a. Vrlo je vjerojatno da nudi blagotvoran neizravan učinak na morfologiju posteljice.
7. U drugom dijelu istraživanja nije uočena statistički značajna razlika u učestalosti nepovoljnih ishoda trudnoće u godini prije pandemije i godini tijekom pandemije COVID-19 u KBC-u Split. To se može tumačiti time da pandemija nije imala negativan učinak na trudnice i njihov plod.
8. Nije bilo povećanja broja pobačaja, intrauterine fetalne smrti ili perinatalne smrti tijekom prve dvije godine pandemije. Iako naša početna hipoteza nije potvrđena, rezultati studije pokazuju da je KBC Split uspio trudnicama pružiti jednako kvalitetnu zdravstvenu skrb kakva im je bila potrebna, unatoč trenutnoj pandemiji i dodatnim ograničenjima koja su uvedena. Sve to nije imalo negativan učinak na konačni ishod njihove trudnoće.

7. SAŽETAK

Uvod: Ključna značajka infekcije COVID-19 je endotelna disfunkcija uzrokovana vezanjem virusa na ACE2 receptor na endotelnim stanicama, što dovodi do stanja koagulopatije. U općoj populaciji COVID-19 je povezan s visokom stopom tromboembolijskih komplikacija, dok u trudnoći povećava rizik od preeklampsije, prijevremenog poroda i drugih nepovoljnih ishoda trudnoće kao što su pobačaj, mrtvorodenost i rana neonatalna smrt. Trudnoća je, sama po sebi, hiperkoagulabilno stanje pa ne čudi da tijekom trudnoće i u babinju COVID-19 infekcija može imati dodatne ili sinergističke čimbenike rizika za trombozu. Navedeno upućuje da bi COVID-19 mogao biti povezan sa stanjima hiperkoagulabilnosti koja rezultiraju uteroplacentalnom malperfuzijom. RCOG je preporučio uvođenje LMWH profilaktički za sve COVID-19 pozitivne trudnice, osim ako se porod ne očekuje unutar sljedećih 12 sati. Od morfoloških promjena na posteljici uočena je veća učestalost MVM-a, FVM-a i povećanje periviloznog taloženja fibrina. Pandemija je donijela mnoge restrikcije što je rezultiralo otežanim pružanjem medicinske skrbi svima pa i trudnicama, čime se povećala mogućnost nepovoljnog tijeka i ishoda trudnoće.

Cilj: Glavni cilj istraživanja bio je odrediti patohistološke karakteristike posteljica iz COVID-19 trudnoća s osvrtom na tromjesečje primoinfekcije i terapiju niskomolekularnim heparinom. Sekundarni ciljevi istraživanja bili su odrediti je li za vrijeme COVID-19 pandemije došlo do porasta nepovoljnih ishoda trudnoća, kao što su pobačaji, mrtvorodenost i rana neonatalna smrt u KBC-u Split.

Materijali i metode: Za prvi dio istraživanja prikupljene su 104 posteljice i podaci roditelja koje su imale pozitivan PCR test na SARS CoV-2 u trudnoći, a rodile su u vremenskom razdoblju od 01.04.2021. do 01.09.2021. u KBC-u Split. Posteljice su poslane na patohistološku analizu. Prikupljeni podaci su podijeljeni u tri skupine ovisno o tromjesečju trudnoće u kojem je došlo do infekcije COVID-19 virusom, a potom na dvije skupine na temelju primjene LMWH. U drugo istraživanje uključene su sve trudnice koje su imale nepovoljan ishod trudnoće kao što su spontani pobačaj, intrauterina smrt ploda, kao i rana neonatalna smrt u KBC-u Split. Ispitanice su podijeljene u dvije skupine: “prije pandemije” te “za vrijeme pandemije” te su podaci statistički obrađeni.

Rezultati: U 38% trudnica početak infekcije COVID-19 bio je u prvom tromjesečju trudnoće, u 27% u drugom i 35% trudnica bilo je zaraženo je u trećem tromjesečju. Pojava FVM-a bila je statistički značajno veća u skupini LMWH- i ako je početak infekcije bio u drugom tromjesečju, dok je vjerojatnost taloženja periviloznog fibrina rasla ako se infekcija COVID-19 dogodila u prvom tromjesečju trudnoće. Nije bilo statistički značajne razlike u učestalosti nepovoljnih ishoda trudnoće u skupini prije pandemije i tijekom pandemije COVID-19.

Zaključak: Vrijeme infekcije COVID-19 utječe na oštećenje trofoblasta i naknadni morfološki izgled posteljice. Korištenje LMWH kod COVID-19 pozitivnih trudnica smanjuje stopu FVM-a u ispitanim posteljicama. Naše je istraživanje pokazalo da pandemija nije imala negativan učinak na trudnice i njihov plod. Nije bilo povećanja broja pobačaja, intrauterine fetalne smrti ili perinatalne smrti tijekom godine pandemije. Iako naša početna hipoteza nije potvrđena, rezultati studije pokazuju da je KBC Split uspio trudnicama pružiti jednako kvalitetnu zdravstvenu skrb kakva im je bila potrebna, unatoč trenutnoj pandemiji i dodatnim ograničenjima koja su uvedena. Sve to nije imalo negativan učinak na konačni ishod njihove trudnoće.

8. SUMMARY

Introduction: A key feature of the COVID-19 infection is endothelial dysfunction caused by binding of the virus to the ACE2 receptor on endothelial cells, leading to a state of coagulopathy. In the general population, COVID-19 is associated with a high rate of thromboembolic complications, while in pregnancy it increases the risk of preeclampsia, premature birth and other adverse pregnancy outcomes such as miscarriage, stillbirth and early neonatal death. Pregnancy, by itself, is a hypercoagulable state, so it is not surprising that during pregnancy and in the puerperium the infection of COVID-19 can have additional or synergistic risk factors for thrombosis. The above indicates that COVID-19 could be associated with a state of hypercoagulability that results in uteroplacental malperfusion. The RCOG recommends the introduction of LMWH prophylactically for all COVID-19 positive pregnancies, unless delivery is expected within the next 12 hours. The morphological changes on the placenta such as a higher frequency of MVM, FVM and an increase in perivillous fibrin deposition were observed. The pandemic brought about many restrictions, which resulted in difficult provision of medical care to everyone, including pregnant women, which increased the possibility of an unfavorable pregnancy outcomes.

Aim: The main aim of the study was to determine the pathohistological characteristics of placentas from COVID-19 pregnancies according to the trimester of primary infection and therapy with low molecular weight heparin. The secondary objectives of the research were to determine whether during the COVID-19 pandemic there was an increase in adverse pregnancy outcomes, such as miscarriages, stillbirths and early neonatal deaths in KBC Split.

Materials and methods: For the first part of the research, 104 placentas and data of mothers who had a positive PCR test for SARS CoV-2 during pregnancy, and who gave birth in the time period from April 1, 2021. until 01.09.2021. in The University Hospital Split, were collected. The placentas were sent for the pathohistological analysis. The collected data were divided into three groups depending on the trimester of pregnancy in which the infection occurred, and then into two groups based on the use of LMWH. The second study included all pregnant women who had an unfavorable pregnancy outcome, such as miscarriage, intrauterine fetal death, as well as early neonatal death in The University Hospital Split. Women were

divided into two groups: "before the pandemic" and "during the pandemic", and the data were statistically processed.

Results: In 38% of patients the onset of COVID-19 infection was the 1st trimester of pregnancy, in 27% in the 2nd and 35% of women were infected in the 3rd trimester. FVM occurrence was statistically significantly higher in the LMWH- group and if the onset of infection was in the 2nd trimester, while the perivillous fibrin deposition was most likely to happen if the COVID-19 infection occurred in the 1st trimester of pregnancy. There was no statistically significant difference in the incidence of adverse pregnancy outcomes in the period prior to the pandemic and during the year of the COVID-19 pandemic.

Conclusion: The onset of COVID-19 infection has the influence on trophoblast damage and subsequent morphological appearance of the placenta. LMWH use in COVID positive pregnant women decreases the rate of the FVM in examined placentas. Our study showed that the pandemic did not have a negative effect on pregnant women and their fetuses. There was no increase in miscarriage, intrauterine fetal demise, or perinatal death during the year of the pandemic. Although our initial hypothesis was not confirmed, the study's results do indicate that the University Hospital of Split was able to provide pregnant women with the same high-quality health care they required, despite the ongoing pandemic and additional restrictions that were introduced. All of which had no adverse effect on the final outcome of their pregnancies.

9. LITERATURA

1. Wikipedija - suradnici. Pandemija COVID-19 [Internet]. Wikipedija, Slobodna enciklopedija; 2023 svi 5, 15:21 UTC [citirano 2023 srp 18]. Dostupno na: [//hr.wikipedia.org/w/index.php?title=Pandemija_COVID-19&oldid=6633466](https://hr.wikipedia.org/w/index.php?title=Pandemija_COVID-19&oldid=6633466).
2. Službena stranica Vlade za pravodobne i točne informacije o koronavirusu [Internet]. [citirano 2023 srp 17]. Dostupno na: <https://www.koronavirus.hr/>.
3. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi ZL. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol*. 2021 Mar;19(3):141-154. doi: 10.1038/s41579-020-00459-7. Epub 2020 Oct 6. Erratum in: *Nat Rev Microbiol*. 2022 May;20(5):315. PMID: 33024307; PMCID: PMC7537588.
4. Tsai PH, Lai WY, Lin YY, Luo YH, Lin YT, Chen HK, et al. Clinical manifestation and disease progression in COVID-19 infection. *J Chin Med Assoc*. 2021;84(1):3–8.
5. Pourbagheri-Sigaroodi A, Bashash D, Fateh F, Abolghasemi H. Laboratory findings in COVID-19 diagnosis and prognosis. *Clin Chim Acta*. 2020;510:475–82.
6. Skitarelić N, Dželalija B, Skitarelić N. Covid-19 pandemija: kratki pregled dosadašnjih spoznaja. *Medica Jadertina* [Internet]. 2020;50(1):5-8. [citirano 2023 srp 14.]. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/236685>.
7. Li M, Wang H, Tian L, Pang Z, Yang Q, Huang T, Fan J, Song L, Tong Y, Fan H. COVID-19 vaccine development: milestones, lessons and prospects. *Signal Transduct Target Ther*. 2022 May 3;7(1):146. doi: 10.1038/s41392-022-00996-y. PMID: 35504917; PMCID: PMC9062866.
8. Rasmussen SA, Jamieson DJ. COVID-19 and Pregnancy. *Infect Dis Clin North Am*. 2022 Jun;36(2):423-433. doi: 10.1016/j.idc.2022.01.002. Epub 2022 Jan 31. PMID: 35636908; PMCID: PMC8802611.
9. Salem D, Katranji F, Bakdash T. COVID-19 infection in pregnant women: review of maternal and fetal outcomes. *Int J Gynaecol Obstet*. 2021;152:291–8.
10. Jamieson DJ, Rasmussen SA. An update on COVID-19 and pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 2022;226:177–86.

11. Kumar D, Verma S, Mysorekar IU. COVID-19 and pregnancy: clinical outcomes; mechanisms, and vaccine efficacy. *Transl Res.* 2023 Jan;251:84-95. doi: 10.1016/j.trsl.2022.08.007. Epub 2022 Aug 12. PMID: 35970470; PMCID: PMC9371980.
12. Rad HS, Röhl J, Stylianou N, Allenby MC, Bazaz SR, Warkiani ME, Guimaraes FSF, Clifton VL, Kulasinghe A. The Effects of COVID-19 on the Placenta During Pregnancy. *Front Immunol.* 2021 Sep 15;12:743022. doi: 10.3389/fimmu.2021.743022. Erratum in: *Front Immunol.* 2022 Sep 08;13:998406. PMID: 34603330; PMCID: PMC8479199.
13. Xu SW, Ilyas I, Weng JP. Endothelial dysfunction in COVID-19: an overview of evidence, biomarkers, mechanisms and potential therapies. *Acta Pharmacol Sin.* 2023 Apr;44(4):695-709. doi: 10.1038/s41401-022-00998-0. Epub 2022 Oct 17. PMID: 36253560; PMCID: PMC9574180.
14. Lye P, Dunk CE, Zhang J, Wei Y, Nakpu J, Hamada H, Imperio GE, Bloise E, Matthews SG, Lye SJ. ACE2 Is Expressed in Immune Cells That Infiltrate the Placenta in Infection-Associated Preterm Birth. *Cells.* 2021 Jul 8;10(7):1724. doi: 10.3390/cells10071724. PMID: 34359894; PMCID: PMC8303980.
15. Wang CL, Liu YY, Wu CH, et al.. Impact of COVID-19 on pregnancy. *Int J Med Sci.* 2021;18:763–7.
16. Meyyazhagan A, Pushparaj K, Balasubramanian B, et al.. COVID-19 in pregnant women and children: insights on clinical manifestations, complexities, and pathogenesis. *Int J Gynaecol Obstet.* 2022;156:216–24.
17. Aghaamoo S, Ghods K, Rahmanian M. Pregnant women with COVID-19: the placental involvement and consequences. *J Mol Histol.* 2021;52:427–35.
18. Wei SQ, Bilodeau-Bertrand M, Liu S, Auger N. The impact of COVID-19 on pregnancy outcomes: a systematic review and meta-analysis. *CMAJ.* 2021;193(16):E540–8.
19. Alves C, Rapp A. Spontaneous Abortion. *StatPearls.* 2022;1–11.
20. Chi J, Gong W, Gao Q. Clinical characteristics and outcomes of pregnant women with COVID-19 and the risk of vertical transmission: a systematic review. *Arch Gynecol Obstet.* 2021;303(2):337–45.

21. Kazemi SN, Hajikhani B, Didar H, Hosseini SS, Haddadi S, Khalili F, et al. COVID-19 and cause of pregnancy loss during the pandemic: A systematic review. *PLoS One* . 2021;16(8):e0255994.
22. Azer SA. COVID-19: pathophysiology, diagnosis, complications and investigational therapeutics. *New Microbes New Infect* . 2020;37:100738.
23. Alves C, Rapp A. Spontaneous Abortion. 2022 Jul 18. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. PMID: 32809356.
24. Borges Cavalcante M, Torres De Melo C, Cavalcante B, et al.. COVID-19 and miscarriage: from immunopathological mechanisms to actual clinical evidence. *J Reprod Immunol*. 2021;148:103382.
25. Chmielewska B, Barratt I, Townsend R, et al.. Effects of the COVID-19 pandemic on maternal and perinatal outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*. 2021;9:e759–72.
26. Robertson T, Carter ED, Chou VB, Stegmuller AR, Jackson BD, Tam Y, Sawadogo-Lewis T, Walker N. Early estimates of the indirect effects of the COVID-19 pandemic on maternal and child mortality in low-income and middle-income countries: a modelling study. *Lancet Glob Health*. 2020 Jul;8(7):e901-e908. doi: 10.1016/S2214-109X(20)30229-1. Epub 2020 May 12. PMID: 32405459; PMCID: PMC7217645.
27. Naqvi S, Saleem S, Billah SM, Moore J, Mwenechanya M, Carlo WA, Esamai F, Bucher S, Derman RJ, Goudar SS, Somannavar M, Patel A, Hibberd PL, Figueroa L, Krebs NF, Petri WA, Lokangaka A, Bauserman M, Koso-Thomas M, McClure EM, Goldenberg RL. The Global Network COVID-19 studies: a review. *BJOG*. 2023 Aug 2. doi: 10.1111/1471-0528.17610. Epub ahead of print. PMID: 37530467.
28. Naqvi S, Naqvi F, Saleem S, Thorsten VR, Figueroa L, Mazariegos M, Garces A, Patel A, Das P, Kavi A, Goudar SS, Esamai F, Mwenechanya M, Chomba E, Lokangaka A, Tshetu A, Yousuf S, Bauserman M, Bose CL, Liechty EA, Krebs NF, Derman RJ, Carlo WA, Hibberd PL, Billah SM, Peres-da-Silva N, Haque R, Petri WA Jr, Koso-Thomas M, Nolen T, McClure EM, Goldenberg RL. Health care in pregnancy during the COVID-19 pandemic and pregnancy

outcomes in six low- and-middle-income countries: Evidence from a prospective, observational registry of the Global Network for Women's and Children's Health. *BJOG*. 2022 Jul;129(8):1298-1307. doi: 10.1111/1471-0528.17175. PMID: 35377514; PMCID: PMC9111322.

29. Rasmussen SA, Smulian JC, Lednicky JA, Wen TS, Jamieson DJ. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) and pregnancy: what obstetricians need to know. *Am J Obstet Gynecol*. 2020;222(5):415–26.

30. Firth A, Prathapan P. Azithromycin: The First Broad-spectrum Therapeutic. *Eur J Med Chem*. 2020;207:112739.

31. Million M, Lagier JC, Gautret P, Colson P, Fournier PE, Amrane S, et al. Early treatment of COVID-19 patients with hydroxychloroquine and azithromycin: A retrospective analysis of 1061 cases in Marseille, France. *Travel Med Infect Dis*. 35:101738.

32. López M, Gonce A, Meler E, Plaza A, Hernández S, Martinez-Portilla RJ, et al. Coronavirus Disease 2019 in Pregnancy: A Clinical Management Protocol and Considerations for Practice. *Fetal Diagn Ther*. 2020;47(7):519–28.

33. Motta JK, Ogunnaike RO, Shah R, Stroeve S, Cedeño H v, Thapa SK, et al. Clinical Outcomes With the Use of Prophylactic Versus Therapeutic Anticoagulation in Coronavirus Disease 2019. *Crit Care Explor*. 2020;2(12):e0309.

34. Tang N, Bai H, Chen X, Gong J, Li D, Sun Z. Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. *J Thromb Haemost* . 2020;18(5):1094–9.

35. Dodd R.H., et al. Concerns and motivations about COVID-19 vaccination. *Lancet. Infect. Dis*. 2021;21:161.

36. FDA Approves First COVID-19 Vaccine | FDA [Internet.]. 2022 [citirano 2022 lis 7.] Dostupno na: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-covid-19-vaccine>.

37. Wilcox, A.J., Rose, C.E., Meaney-Delman, D. & Ellington, S.R. Receipt of mRNA COVID-19 vaccines preconception and during pregnancy and risk of self-reported

spontaneous abortions, CDC v-safe COVID-19 Vaccine Pregnancy Registry 2020-21. (2021) doi:10.21203/RS.3.RS-798175/V1.

38. The American College of Obstetricians and Gynecologists . ACOG and SMFM Recommend COVID-19 Vaccination for Pregnant Individuals, [Internet]. 2021. [citirano 2022 lip 22.]. Dostupno na: <https://www.acog.org/news/news-releases/2021/07/acog-smfm-recommend-covid-19-vaccination-for-pregnant-individuals>.

39. Goldshtein I., et al. Association between BNT162b2 vaccination and incidence of SARS-CoV-2 infection in pregnant women. JAMA. 2021 doi: 10.1001/JAMA.2021.11035.

40. Shimabukuro, T.T. et al. Preliminary findings of mRNA covid-19 vaccine safety in pregnant persons. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2104983> 384, 2273–2282 (2021).

41. Carbone L, Trinchillo MG, Di Girolamo R, Raffone A, Saccone G, Iorio GG, Gabrielli O, Maruotti GM. COVID-19 vaccine and pregnancy outcomes: A systematic review and meta-analysis. *Int J Gynaecol Obstet.* 2022 Dec;159(3):651-661. doi: 10.1002/ijgo.14336. Epub 2022 Jul 29. PMID: 35810414; PMCID: PMC9349529.

42. Pare E, Parry S, McElrath TF, Pucci D, Newton A, Lim K. Clinical Risk Factors for Preeclampsia in the 21th Century. *Obstet Gynecol* 2014;124:763-770.

43. Fox H. Sebire NJ. Physiology of the placenta. U: Fox H i sur. *Pathology of the placenta III* izd. Philadelphia: Saunders 2007:57-69.

44. Jansen CHJR, Kastelein AW, Kleinrouweler CE, Van Leeuwen E, De Jong KH, Pajkrt E, Van Noorden CJF. Development of placental abnormalities in location and anatomy. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2020 Aug;99(8):983-993. doi: 10.1111/aogs.13834. Epub 2020 Mar 18. PMID: 32108320; PMCID: PMC7496588.

45. Moore SP, Newberry DM, Jnah AJ. Use of Placental/Umbilical Blood Sampling for Neonatal Admission Blood Cultures: Benefits, Challenges, and Strategies for Implementation. *Neonatal Netw.* 2017 May 1;36(3):152-159.

46. Kreis, NN, Ritter, A, Louwen, F, Yuan, J. A message from the human placenta: structural and immunomodulatory defense against SARS-CoV-2. *Cells* 2020;9:1777.

47. Pulinx, B, Kieffer, D, Michiels, I, Petermans, S, Strybol, D, Delvaux, S, et al.. Vertical transmission of SARS-CoV-2 infection and preterm birth. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2020;39:2441–5.
48. Vivanti, AJ, Vauloup-Fellous, C, Prevot, S, Zupan, V, Suffee, C, Do Cao, J, et al.. Transplacental transmission of SARS-CoV-2 infection. *Nat Commun* 2020;11:3572.
49. Kotlyar, AM, Grechukhina, O, Chen, A, Popkhadze, S, Grimshaw, A, Tal, O, et al.. Vertical transmission of coronavirus disease 2019: a systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 2021;224:35–53.e3.
50. Wong, YP, Khong, TY, Tan, GC. The effects of COVID-19 on placenta and pregnancy: what do we know so far? *Diagnostics* 2021;11:94.
51. Fahmi A., et al. SARS-CoV-2 can infect and propagate in human placenta explants. *Cell Reports Med.* 2021;2.
52. Argueta L.B., et al. Inflammatory responses in the placenta upon SARS-CoV-2 infection late in pregnancy. *iScience.* 2022;25.
53. Di Girolamo, R, Khalil, A, Alameddine, S, D'Angelo, E, Galliani, C, Matarrelli, B, et al.. Placental histopathology after SARS-CoV-2 infection in pregnancy: a systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 2021;3:100468.
54. Tasca, C, Rossi, RS, Corti, S, Anelli, GM, Savasi, V, Brunetti, F, et al.. Placental pathology in COVID-19 affected pregnant women: a prospective case-control study. *Placenta* 2021;110:9–15.
55. Algarroba, GN, Rekawek, P, Vahanian, SA, Khullar, P, Palaia, T, Peltier, MR, et al.. Visualization of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 invading the human placenta using electron microscopy. *Am J Obstet Gynecol* 2020;223:275–8.
56. Facchetti, F, Bugatti, M, Drera, E, Tripodo, C, Sartori, E, Cancila, V, et al.. SARS-CoV-2 vertical transmission with adverse effects on the newborn revealed through integrated immunohistochemical, electron microscopy and molecular analyses of placenta. *EBioMedicine* 2020;59:102951.

57. Sharps, MC, Hayes, DJL, Lee, S, Zou, Z, Brady, CA, Almoghrabi, Y, et al.. A structured review of placental morphology and histopathological lesions associated with SARS-CoV-2 infection. *Placenta* 2020;101:13–29.
58. Shanes, ED, Mithal, LB, Otero, S, Azad, HA, Miller, ES, Goldstein, JA. Placental pathology in COVID-19. *Am J Clin Pathol* 2020;154:23–32.
59. Khong TY, Mooney EE, Ariel I, Balmus NC, Boyd TK, Brundler MA, Derricott H, Evans MJ, Faye-Petersen OM, Gillan JE, Heazell AE, Heller DS, Jacques SM, Keating S, Kelehan P, Maes A, McKay EM, Morgan TK, Nikkels PG, Parks WT, Redline RW, Scheimberg I, Schoots MH, Sebire NJ, Timmer A, Turowski G, van der Voorn JP, van Lijnschoten I, Gordijn SJ. Sampling and Definitions of Placental Lesions: Amsterdam Placental Workshop Group Consensus Statement. *Arch Pathol Lab Med.* 2016 Jul;140(7):698-713. doi: 10.5858/arpa.2015-0225-CC. Epub 2016 May 25. PMID: 27223167.
60. Lampi K, Papadogiannakis N, Sirotkina M, Pettersson K, Ajne G. Massive perivillous fibrin deposition of the placenta and pregnancy outcome: A retrospective observational study. *Placenta.* 2022 Jan;117:213-218. doi: 10.1016/j.placenta.2021.12.013. Epub 2021 Dec 16. PMID: 34959167.
61. Favilli A, Mattei Gentili M, De Paola F, Laganà AS, Vitagliano A, Bosco M, Cicinelli E, Chiantera V, Uccella S, Parazzini F, Gerli S, Garzon S. COVID-19 and Pregnancy: An Updated Review about Evidence-Based Therapeutic Strategies. *J Pers Med.* 2023 Jun 23;13(7):1035. doi: 10.3390/jpm13071035. PMID: 37511648; PMCID: PMC10381390.
62. Hauer KE. Low-molecular-weight heparin in the treatment of deep venous thrombosis. *West J Med.* 1998 Oct;169(4):240-4. PMID: 9795594; PMCID: PMC1305303.
63. Dumaine R, Borentain M, Bertel O, et al. Intravenous Low-Molecular-Weight Heparins Compared With Unfractionated Heparin in Percutaneous Coronary Intervention: Quantitative Review of Randomized Trials. *Arch Intern Med.* 2007;167(22):2423–2430. doi:10.1001/archinte.167.22.2423.

64. Zullino S, Clemenza S, Mecacci F, Petraglia F. Low Molecular Weight Heparins (LMWH) and Implications along Pregnancy: a Focus on the Placenta. *Reprod Sci.* 2022 May;29(5):1414-1423. doi: 10.1007/s43032-021-00678-0. Epub 2021 Jul 6. PMID: 34231172.
65. Holzheimer RG. Low-molecular-weight heparin (LMWH) in the treatment of thrombosis. *Eur J Med Res.* 2004 Apr 30;9(4):225-39. PMID: 15210403.
66. Li Q, Zhang Y, Zou L. The Effect of Low-Molecular-Weight Heparin on Immune Balance of Patients with Repeated Implantation Failure During the Implantation Window. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand).* 2023 Apr 30;69(4):112-115. doi: 10.14715/cmb/2023.69.4.17. PMID: 37329539.
67. Di Renzo GC, Giardina I. Coronavirus disease 2019 in pregnancy: consider thromboembolic disorders and thromboprophylaxis. *Am J Obstet Gynecol.* 2020 Jul;223(1):135. doi: 10.1016/j.ajog.2020.04.017. Epub 2020 Apr 22. PMID: 32333857; PMCID: PMC7175884.
68. Creanga AA, Syverson C, Seed K, Callaghan WM. Pregnancy-Related Mortality in the United States, 2011-2013. *Obstet Gynecol.* 2017 Aug;130(2):366-373. doi: 10.1097/AOG.0000000000002114. PMID: 28697109; PMCID: PMC5744583.
69. Al-Samkari H, Karp Leaf RS, Dzik WH, Carlson JCT, Fogerty AE, Waheed A, Goodarzi K, Bendapudi PK, Bornikova L, Gupta S, Leaf DE, Kuter DJ, Rosovsky RP. COVID-19 and coagulation: bleeding and thrombotic manifestations of SARS-CoV-2 infection. *Blood.* 2020 Jul 23;136(4):489-500. doi: 10.1182/blood.2020006520. PMID: 32492712; PMCID: PMC7378457.
70. RCOG. Coronavirus (COVID-19) infection in pregnancy. In: *Information for health care professionals.* London: Royal College of Obstetricians and Gynaecologists; 2020.
71. Flenady V, Frøen JF, Pinar H, Torabi R, Saastad E, Guyon G, et al. An evaluation of classification systems for stillbirth. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2009;9(1):24.
72. Ajini KK, Radha KR, Reena R P. Classification of stillbirths by relevant condition at death (ReCoDe): a cross sectional study at a rural tertiary care centre in Kerala, India.

Int J Reprod Contracept Obstet Gynecol. 2017;6(3):1061.

73. Kulkarni N, Rosario DP, David LS, Vijayaselvi R, Beck MM. Decoding stillbirths using the Relevant Condition at Death classification: Study from the developing world. *J Turk Ger Gynecol Assoc.* 2019;20(2):106–116.

74. Shende P, Gaikwad P, Gandhewar M, Ukey P, Bhide A, Patel V, Bhagat S, Bhor V, Mahale S, Gajbhiye R, Modi D. Persistence of SARS-CoV-2 in the first trimester placenta leading to transplacental transmission and fetal demise from an asymptomatic mother. *Hum Reprod.* 2021 Mar 18;36(4):899-906. doi: 10.1093/humrep/deaa367. PMID: 33346816; PMCID: PMC7799080.

75. Valdespino-Vázquez MY, Helguera-Repetto CA, León-Juárez M, Villavicencio-Carrisoza O, Flores-Pliego A, Moreno-Verduzco ER, Díaz-Pérez DL, Villegas-Mota I, Carrasco-Ramírez E, López-Martínez IE, Giraldo-Gómez DM, Lira R, Yocupicio-Monroy M, Rodríguez-Bosch M, Sevilla-Reyes EE, Cortés-Bonilla M, Acevedo-Gallegos S, Merchant-Larios H, Cardona-Pérez JA, Irlés C. Fetal and placental infection with SARS-CoV-2 in early pregnancy. *J Med Virol.* 2021 Jul;93(7):4480-4487. doi: 10.1002/jmv.26965. Epub 2021 Apr 6. PMID: 33764543; PMCID: PMC8250563.

76. Halici-Ozturk F, Ocal FD, Aydin S, Tanacan A, Ayhan SG, Altinboga O, Dinc B, Moraloglu ÖT, Sahin D. Investigating the risk of maternal-fetal transmission of SARS-CoV-2 in early pregnancy. *Placenta.* 2021 Mar;106:25-29. doi: 10.1016/j.placenta.2021.02.006. Epub 2021 Feb 14. PMID: 33610934; PMCID: PMC7882222.

77. Baud D, Greub G, Favre G, Gengler C, Jaton K, Dubruc E, Pomar L. Second-Trimester Miscarriage in a Pregnant Woman With SARS-CoV-2 Infection. *JAMA.* 2020 Jun 2;323(21):2198-2200. doi: 10.1001/jama.2020.7233. PMID: 32352491; PMCID: PMC7193526.

78. Taglauer E, Benarroch Y, Rop K, Barnett E, Sabharwal V, Yarrington C, Wachman EM. Consistent localization of SARS-CoV-2 spike glycoprotein and ACE2 over TMPRSS2 predominance in placental villi of 15 COVID-19 positive maternal-fetal dyads. *Placenta.* 2020 Oct;100:69-74. doi: 10.1016/j.placenta.2020.08.015. Epub 2020 Aug 25. PMID: 32862058; PMCID: PMC7445146.

79. Hosier H, Farhadian SF, Morotti RA, Deshmukh U, Lu-Culligan A, Campbell KH, Yasumoto Y, Vogels CB, Casanovas-Massana A, Vijayakumar P, Geng B, Odio CD, Fournier J, Brito AF, Fauver JR, Liu F, Alpert T, Tal R, Szigeti-Buck K, Perincheri S, Larsen C, Garipey AM, Aguilar G, Fardelmann KL, Harigopal M, Taylor HS, Pettker CM, Wyllie AL, Cruz CD, Ring AM, Grubaugh ND, Ko AI, Horvath TL, Iwasaki A, Reddy UM, Lipkind HS. SARS-CoV-2 infection of the placenta. *J Clin Invest.* 2020 Sep 1;130(9):4947-4953. doi: 10.1172/JCI139569. PMID: 32573498; PMCID: PMC7456249.
80. Hsu AL, Guan M, Johannesen E, Stephens AJ, Khaleel N, Kagan N, Tuhlei BC, Wan XF. Placental SARS-CoV-2 in a pregnant woman with mild COVID-19 disease. *J Med Virol.* 2021 Feb;93(2):1038-1044. doi: 10.1002/jmv.26386. Epub 2020 Nov 10. PMID: 32749712; PMCID: PMC7436499.
81. Prabhu M, Cagino K, Matthews KC, Friedlander RL, Glynn SM, Kubiak JM, Yang YJ, Zhao Z, Baergen RN, DiPace JI, Razavi AS, Skupski DW, Snyder JR, Singh HK, Kalish RB, Oxford CM, Riley LE. Pregnancy and postpartum outcomes in a universally tested population for SARS-CoV-2 in New York City: a prospective cohort study. *BJOG.* 2020 Nov;127(12):1548-1556. doi: 10.1111/1471-0528.16403. Epub 2020 Aug 13. PMID: 32633022; PMCID: PMC7361728.
82. Smithgall MC, Liu-Jarin X, Hamele-Bena D, Cimic A, Mourad M, Debelenko L, Chen X. Third-trimester placentas of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)-positive women: histomorphology, including viral immunohistochemistry and in-situ hybridization. *Histopathology.* 2020 Dec;77(6):994-999. doi: 10.1111/his.14215. Epub 2020 Sep 26. PMID: 32692408; PMCID: PMC7405484.
83. Richtmann R, Torloni MR, Oyamada Otani AR, Levi JE, Crema Tobará M, de Almeida Silva C, Dias L, Miglioli-Galvão L, Martins Silva P, Macoto Kondo M. Fetal deaths in pregnancies with SARS-CoV-2 infection in Brazil: A case series. *Case Rep Womens Health.* 2020 Jul 12;27:e00243. doi: 10.1016/j.crwh.2020.e00243. PMID: 32704477; PMCID: PMC7354271.

84. Baergen RN, Heller DS. Placental Pathology in Covid-19 Positive Mothers: Preliminary Findings. *Pediatr Dev Pathol.* 2020 May-Jun;23(3):177-180. doi: 10.1177/1093526620925569. PMID: 32397896; PMCID: PMC7252218.
85. Kuhrt K, McMicking J, Nanda S, Nelson-Piercy C, Shennan A. Placental abruption in a twin pregnancy at 32 weeks' gestation complicated by coronavirus disease 2019 without vertical transmission to the babies. *Am J Obstet Gynecol MFM.* 2020 Aug;2(3):100135. doi: 10.1016/j.ajogmf.2020.100135. Epub 2020 May 8. PMID: 32391520; PMCID: PMC7206425.
86. Chen S, Huang B, Luo DJ, Li X, Yang F, Zhao Y, Nie X, Huang BX. [Pregnancy with new coronavirus infection: clinical characteristics and placental pathological analysis of three cases]. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi.* 2020 May 8;49(5):418-423. Chinese. doi: 10.3760/cma.j.cn112151-20200225-00138. PMID: 32114744.
87. Kirtsman M, Diambomba Y, Poutanen SM, Malinowski AK, Vlachodimitropoulou E, Parks WT, Erdman L, Morris SK, Shah PS. Probable congenital SARS-CoV-2 infection in a neonate born to a woman with active SARS-CoV-2 infection. *CMAJ.* 2020 Jun 15;192(24):E647-E650. doi: 10.1503/cmaj.200821. Epub 2020 May 14. PMID: 32409520; PMCID: PMC7828840.
88. Gao L, Ren J, Xu L, Ke X, Xiong L, Tian X, Fan C, Yan H, Yuan J. Placental pathology of the third trimester pregnant women from COVID-19. *Diagn Pathol.* 2021 Jan 14;16(1):8. doi: 10.1186/s13000-021-01067-6. PMID: 33441152; PMCID: PMC7806280.
89. Giordano G, Petrolini C, Corradini E, Campanini N, Esposito S, Perrone S. COVID-19 in pregnancy: placental pathological patterns and effect on perinatal outcome in five cases. *Diagn Pathol.* 2021 Oct 3;16(1):88. doi: 10.1186/s13000-021-01148-6. PMID: 34602071; PMCID: PMC8487453.
90. Hecht JL, Quade B, Deshpande V, Mino-Kenudson M, Ting DT, Desai N, Dygulska B, Heyman T, Salafia C, Shen D, Bates SV, Roberts DJ (2020) SARS-CoV-2 can infect the placenta and is not associated with specific placental histopathology: a series of 19 placentas from COVID-19-positive mothers. *Mod Pathol* 33:2092–2103.

91. Rebutini PZ, Zanchettin AC, Stonoga ETS, Prá DMM, de Oliveira ALP, Dezidério FDS, Fonseca AS, Dagostini JCH, Hlatchuk EC, Furuie IN, Longo JDS, Cavalli BM, Dino CLT, Dias VMCH, Percicote AP, Nogueira MB, Raboni SM, de Carvalho NS, Machado-Souza C, de Noronha L. Association Between COVID-19 Pregnant Women Symptoms Severity and Placental Morphologic Features. *Front Immunol.* 2021 May 26;12:685919. doi: 10.3389/fimmu.2021.685919. PMID: 34122449; PMCID: PMC8187864.
92. Ageno W, Crotti S, Turpie AG. The safety of antithrombotic therapy during pregnancy. *Expert Opin Drug Saf.* 2004 Mar;3(2):113-8. doi: 10.1517/eods.3.2.113.27343. PMID: 15006717.
93. Mongula JE, Frenken MWE, van Lijnschoten G, Arents NLA, de Wit-Zuurendonk LD, Schimmel-de Kok APA, van Runnard Heimel PJ, Porath MM, Goossens SMTA. COVID-19 during pregnancy: non-reassuring fetal heart rate, placental pathology and coagulopathy. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2020 Nov;56(5):773-776. doi: 10.1002/uog.22189. Epub 2020 Oct 19. PMID: 32853442; PMCID: PMC7461013.
94. Chaiworapongsa T, Romero R, Korzeniewski SJ, et al. Pravastatin to prevent recurrent fetal death in massive perivillous fibrin deposition of the placenta (MPFD). *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016;29(6):855-862. doi:10.3109/14767058.2015.1022864.
95. Yu W, Tellier R, Wright J. Coxsackie Virus A16 Infection of Placenta with Massive Perivillous Fibrin Deposition Leading to Intrauterine Fetal Demise at 36 Weeks Gestation. *Pediatr Dev Pathol.* 2015;18(4):331-4.
96. Ordi J, Ismail M, Ventura P, Kahigwa E, Hirt R, Cardesa A, Alonso PL, Menendez C. Massive Chronic Intervillositis of the Placenta Associated with Malaria Infection. *Am J Surg Pathol.* 1998;22(8):1006-11.
97. Debelenko L, Katsyv I, Chong AM, Peruyero L, Szabolcs M, Uhlemann AC. Trophoblast damage with acute and chronic intervillositis: disruption of the placental barrier by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *Hum Pathol.* 2021;109:69-79.
98. Prusac IK, Zekic Tomas S, Roje D. Apoptosis, proliferation and Fas ligand expression in placental trophoblast from pregnancies complicated by HELLP syndrome or pre-eclampsia.

Acta Obstet Gynecol Scand. 2011 Oct;90(10):1157-63. doi: 10.1111/j.1600-0412.2011.01152.x. Epub 2011 May 31. PMID: 21501125.

99. Tomas SZ, Prusac IK, Roje D, Tadin I. Trophoblast apoptosis in placentas from pregnancies complicated by preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest.* 2011;71(4):250-5. doi: 10.1159/000320289. Epub 2011 Jan 25. PMID: 21266791.

100. Stenton S, McPartland J, Shukla R, Turner K, Marton T, Hargitai B, Bamber A, Pryce J, Peres CL, Burgess N, Wagner B, Ciolka B, Simmons W, Hurrell D, Sekar T, Moldovan C, Trayers C, Bryant V, Palm L, Cohen MC. SARS-COV2 placentitis and pregnancy outcome: A multicentre experience during the Alpha and early Delta waves of coronavirus pandemic in England. *EClinicalMedicine.* 2022 May;47:101389. doi: 10.1016/j.eclinm.2022.101389. Epub 2022 Apr 15. PMID: 35465646; PMCID: PMC9012107.

101. Aydın GA, Ünal S, Özsoy HGT. The effect of gestational age at the time of diagnosis on adverse pregnancy outcomes in women with COVID-19. *J Obstet Gynaecol Res.* 2021 Dec;47(12):4232-4240. doi: 10.1111/jog.15051. Epub 2021 Sep 28. PMID: 34585464; PMCID: PMC8662167.

102. de Medeiros KS, Sarmiento ACA, Costa APF, Macêdo LTA, da Silva LAS, de Freitas CL, Simões ACZ, Gonçalves AK. Consequences and implications of the coronavirus disease (COVID-19) on pregnancy and newborns: A comprehensive systematic review and meta-analysis. *Int J Gynaecol Obstet.* 2022 Mar;156(3):394-405. doi: 10.1002/ijgo.14015. Epub 2021 Nov 19. PMID: 34762735; PMCID: PMC9087607.

103. Leung C, Simões E Silva AC, Oliveira EA. Are in-hospital COVID-19-related mortality and morbidity in pregnancy associated with gestational age? *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2022 Aug;60(2):234-242. doi: 10.1002/uog.24931. PMID: 35502537; PMCID: PMC9347440.

104. Schwartz DA, Avvad-Portari E, Babál P, Baldewijns M, Blomberg M, Bouachba A, Camacho J, Collardeau-Frachon S, Colson A, Dehaene I, Ferreres JC, Fitzgerald B, Garrido-Pontnou M, Gergis H, Hargitai B, Helguera-Repetto AC, Holmström S, Irlés CL, Leijonhfvud Å, Libbrecht S, Marton T, McEntagart N, Molina JT, Morotti R, Nadal A, Navarro A, Nelander M, Oviedo A, Otani ARO, Papadogiannakis N, Petersen AC, Roberts DJ, Saad AG, Sand A,

Schoenmakers S, Sehn JK, Simpson PR, Thomas K, Valdespino-Vázquez MY, van der Meeren LE, Van Dorpe J, Verdijk RM, Watkins JC, Zaigham M. Placental Tissue Destruction and Insufficiency From COVID-19 Causes Stillbirth and Neonatal Death From Hypoxic-Ischemic Injury. *Arch Pathol Lab Med.* 2022 Jun 1;146(6):660-676. doi: 10.5858/arpa.2022-0029-SA. PMID: 35142798.

105. Bertero L, Borella F, Botta G, Carosso A, Cosma S, Bovetti M, Carosso M, Abbona G, Collemi G, Papotti M, Cassoni P, Benedetto C. Placenta histopathology in SARS-CoV-2 infection: analysis of a consecutive series and comparison with control cohorts. *Virchows Arch.* 2021 Oct;479(4):715-728. doi: 10.1007/s00428-021-03097-3. Epub 2021 May 1. PMID: 33934229; PMCID: PMC8088311.

106. Mirbeyk M, Saghadzadeh A, Rezaei N. A systematic review of pregnant women with COVID-19 and their neonates. *Arch Gynecol Obstet.* 2021 Jul;304(1):5-38. doi: 10.1007/s00404-021-06049-z. Epub 2021 Apr 2. PMID: 33797605; PMCID: PMC8017514.

107. Coopersmith CM, Antonelli M, Bauer SR, et al. The surviving sepsis campaign: research priorities for coronavirus disease 2019 in critical illness. *Crit Care Med.* 2021;49:598–622.

108. Rai R, Regan L. Recurrent miscarriage. *Lancet.* 2006 Aug 12;368(9535):601-11. doi: 10.1016/S0140-6736(06)69204-0. PMID: 16905025.

109. Mouri MI, Hall H, Rupp TJ. Threatened Abortion. [Updated 2022 Sep 5]. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430747/>.

110. Rotshenker-Olshinka K, Volodarsky-Perel A, Steiner N, et al. COVID-19 pandemic effect on early pregnancy: are miscarriage rates altered, in asymptomatic women? *Arch Gynecol Obstet.* 2021;303:839–45.

111. DeSisto CL, Wallace B, Simeone RM, et al. Risk for stillbirth among women with and without COVID-19 at Delivery Hospitalization United States, March 2020–September 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2021;70:1640–5.

112. Siddiqui S, Najam R. Pregnancy outcomes with COVID-19 lessons learned from the pandemic. *Cureus*. 2021;13:e16358.

113. Hayakawa S, Komine-Aizawa S, Mor GG. COVID-19 pandemic and pregnancy. *J Obstet Gynaecol Res*. 2020;46:1958–66.

10. ŽIVOTOPIS

OSOBNI PODACI:

Ime i (djevojačko) prezime: Andrea (Lončar) Dagelić

Datum i mjesto rođenja: 04. travnja 1991. godine u Splitu, Republika Hrvatska

Bračno stanje: Udana, majka 2 djece

e-mail: andrea.dagelic@gmail.com

OBRAZOVANJE:

o 1997. - 2005. Osnovna škola „Kamen- Šine“, Split

o 2005. - 2009. Zdravstvena škola Split, smjer: farmaceutski tehničar

o 2009. – 2015. Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, smjer doktor medicine

o 2019.- danas Doktorski studij „Biologija novotvorina“, Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

RADNO ISKUSTVO:

o 2015. – 2016. Pripravnički staž za doktore medicine u KBC-u Split

o 2016.-2017. godine Doktor medicine u Timu 1 HM Zavoda za hitnu medicinu

Splitsko dalmatinske županije, ispostave Split i Solin

o 2017.- danas Specijalizacija iz ginekologije i opstetricije, Klinika za ženske bolesti i porode, Klinički bolnički centar Split

TEČAJEVI I TRAJNE EDUKACIJE LIJEČNIKA:

o 2009.- Sudjelovanje na 6. ISABS konferenciji

o 2014.- Tečaj trajne kvalifikacije "Hitna stanja u ORL"

o 2015.- Slobodno priopćenje na Perinatalnim danima „Ante Dražančić“ u Splitu (Trudnoća i porođaj uz gestacijski dijabetes melitus u KBC-u Split)

o 2016.- Tečaj kardiopulmonalne reanimacije odraslih (ALS)- KBC Split

o 2018.- Intrapartalni nadzor- KBC Sestre Milosrdnice Zagreb

o 2021.- Hrvatski posljediplomski tečaj ginekološke kirurgije i endoskopije s međunarodnim sudjelovanjem Kurt Semm

PUBLIKACIJE:

1. Dagelic A, Roje D, Radman M, Mestrovic Z, Kosovic I, Aracic N. Pregnancy and delivery with gestational diabetes mellitus in University Hospital Split. *Gynaecol Perinatol.* 2016; 25(3): 91-96.

2. Dagelic A, Stefanovic V, Resic Karara J, Kuzmic Prusac I, Roje D, Kosovic I, Zekic Tomas S. Does COVID-19 infection acquired in different pregnancy trimester influence placental pathology? *J Perinat Med.* 2022 Nov 25. doi: 10.1515/jpm-2022-0452. Epub ahead of print. PMID: 36423330.

3. Dagečić A, Mulic E, Kuzmic Prusac I, Zekic Tomas S. The impact of the COVID-19 pandemic on adverse fetal outcomes: A cross-sectional study. *Medicine (Baltimore).* 2023 May 26;102(21):e33887. doi: 10.1097/MD.00000000000033887. PMID: 37233416; PMCID: PMC10219642.

ČLANSTVA:

o 2016. godine - danas članica Hrvatske liječničke komore

VJEŠTINE I AKTIVNOSTI:

o Poznavanje stranih jezika: aktivno služenje engleskim jezikom, pasivno poznavanje njemačkog i talijanskog jezika.

o R1 roniac

o Vozačka dozvola B kategorije

4.