

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
“VICTOR BABEȘ” DIN TIMISOARA  
FACULTATEA DE MEDICINA  
DEPARTAMENTUL XI – PEDIATRIE**

**NICOARĂ DELIA-MARIA**



# **TEZĂ DE DOCTORAT**

**VALOAREA PREDICTIVĂ A BIOMARKERILOR  
HEMATOLOGICI ÎN ÎMBUNĂTĂȚIREA EFICIENȚEI  
DIAGNOSTICE ÎN BOLILE CRONICE LA COPIL**

**– R E Z U M A T –**

Conducător de doctorat:  
**PROF. UNIV. DR. HABIL. MĂRGINEAN OTILIA**

**Timișoara**

**2 0 2 4**

## CUPRINS

|                                                                  |      |
|------------------------------------------------------------------|------|
| Listă de publicații .....                                        | VI   |
| Listă de abrevieri .....                                         | VII  |
| Listă de figuri .....                                            | IX   |
| Listă de tabele .....                                            | XI   |
| Mulțumiri.....                                                   | XII  |
| INTRODUCERE .....                                                | XIII |
| <br>                                                             |      |
| PARTEA GENERALĂ .....                                            | 1    |
| 1. Inflamația în bolile cronice .....                            | 1    |
| 1.1. Considerații generale .....                                 | 1    |
| 1.2. Fiziopatogenie .....                                        | 2    |
| 1.3. Biomarkeri clinici .....                                    | 4    |
| 1.4. Componente celulare ale inflamației cronice .....           | 6    |
| 1.4.1. Neutrofile .....                                          | 6    |
| 1.4.2. Limfocite .....                                           | 8    |
| 1.4.3. Macrofage.....                                            | 9    |
| 1.4.4. Trombocite.....                                           | 10   |
| 1.4. Indicii hematologici ca biomarkeri în bolile cronice .....  | 11   |
| 1.4.1. Raportul neutrofile/limfocite .....                       | 11   |
| 1.4.2. Raportul trombocite/limfocite .....                       | 12   |
| 1.4.3. Indicele de inflamație imuna sistemică .....              | 13   |
| 1.4.4. Indicele de răspuns inflamator sistemic .....             | 13   |
| 2. Inflamația în obezitate și sindromul metabolic la copil ..... | 14   |
| 2.1. Generalități despre obezitate la copil .....                | 14   |
| 2.1.1. Fiziopatogenie .....                                      | 15   |
| 2.1.2. Mijloace de evaluare.....                                 | 16   |
| 2.1.3. Biomarkeri .....                                          | 18   |
| 2.1.4. Complicații .....                                         | 19   |
| 2.2. Generalități despre sindromul metabolic la copil .....      | 20   |

|                                                                                                                                                                                                          |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.1.3. Biomarkeri .....                                                                                                                                                                                  | 22        |
| 2.1.4. Complicații .....                                                                                                                                                                                 | 23        |
| 2.3. Inflamația ca legătură între obezitate si sindrom metabolic .....                                                                                                                                   | 25        |
| 2.4. Indici hematologici în obezitate si sindrom metabolic .....                                                                                                                                         | 27        |
| 3. Inflamația în artrita idiopatică juvenilă .....                                                                                                                                                       | 29        |
| 2.4. Generalități despre artrita idiopatică juvenilă .....                                                                                                                                               | 29        |
| 2.4. Fiziopatologia inflamației .....                                                                                                                                                                    | 31        |
| 2.4. Biomarkeri inflamatori în artrita idiopatică juvenilă .....                                                                                                                                         | 32        |
| 2.4. Indici hematologici în bolile reumatologice .....                                                                                                                                                   | 34        |
| <b>PARTEA SPECIALĂ .....</b>                                                                                                                                                                             | <b>36</b> |
| 1. Obiective și metodologia cercetării .....                                                                                                                                                             | 36        |
| 2. Studiul I: Evaluarea relației dintre Indicele de Inflamație Imună Sistemică și<br>sindromul metabolic la copiii cu obezitate .....                                                                    | 41        |
| 2.1. Introducere .....                                                                                                                                                                                   | 41        |
| 2.2. Material și metoda .....                                                                                                                                                                            | 42        |
| 2.3. Rezultate .....                                                                                                                                                                                     | 46        |
| 2.4. Discuții și concluzii .....                                                                                                                                                                         | 53        |
| 3. Studiul II: Evaluarea performanței diagnostice a Indicelui de Inflamație Imună<br>Sistemică în artrita inflamatorie la copii: diferențierea artritei idiopatice<br>juvenile de artrita reactivă ..... | 59        |
| 3.1. Introducere .....                                                                                                                                                                                   | 59        |
| 3.2. Materiale și metode .....                                                                                                                                                                           | 60        |
| 3.3. Rezultate .....                                                                                                                                                                                     | 63        |
| 3.4. Discuții și concluzii .....                                                                                                                                                                         | 71        |
| 4. Studiul III: Examinarea relației dintre Indicele de Inflamație Imună Sistemică<br>și severitatea bolii în artrita idiopatică juvenilă .....                                                           | 76        |
| 4.1. Introducere .....                                                                                                                                                                                   | 76        |
| 4.2. Materiale și metode .....                                                                                                                                                                           | 76        |
| 4.3. Rezultate .....                                                                                                                                                                                     | 81        |
| 4.4. Discuții și concluzii .....                                                                                                                                                                         | 95        |
| 5. Elemente de originalitate și contribuții personale .....                                                                                                                                              | 102       |
| 6. Limitări ale tezei doctorale si perspective de viitor .....                                                                                                                                           | 104       |

|                                 |            |
|---------------------------------|------------|
| <b>CONCLUZII GENERALE .....</b> | <b>106</b> |
| BIBLIOGRAFIE .....              | 110        |
| ANEXE .....                     | I          |

# REZUMAT

## INTRODUCERE

În ultimele decenii, incidența bolilor cronice la copii a crescut semnificativ, estimările ajungând până la 30%. Această escaladare a fost însoțită de o creștere corespunzătoare a dizabilității asociate bolii. Dovezi recente sugerează faptul că inflamația reprezintă un mecanism patogenetic comun care stă la baza numeroaselor afecțiuni cronice de sănătate, precum obezitatea, diabetul, sindromul metabolic (MetS), bolile cardiovasculare, cancerul, astmul, boala inflamatorie intestinală și bolile autoimune.

Biomarkerii inflamatori includ atât markeri clasici precum proteina C reactivă (CRP), fibrinogenul și amiloidul seric A, precum și markeri mai complecși, cum ar fi citokinele (de exemplu, Interleukina-1, Interleukina-6, factorul de necroză tumorală-alfa) și indicatorii stresului oxidativ (speciile reactive de oxigen). Proteinele inflamatorii eliberate în timpul inflamației influențează de asemenea populațiile celulare din sistemul hematopoietic. Prin urmare, cercetările recente au focalizat atenția asupra modificărilor survenite în caracteristicile celulelor imunitare ca răspuns la inflamație, utilizând indici derivați din diverse subtipuri de leucocite din hemoleucogramă (HLG). Exemple de astfel de indici sunt raportul neutrofile/limfocite (NLR) și Indicele de Inflamație Imună Sistemică (IIS), care și-au demonstrat valoarea în investigarea bolilor inflamatorii cronice, în special la adulți.

Obezitatea pediatrică și artrita idiopatică juvenilă (AIJ) sunt două exemple de boli cronice în care inflamația joacă un rol semnificativ. În ciuda progreselor în cercetarea medicală, lipsesc biomarkerii fiabili care să poată reflecta cu acuratețe statusul inflamator și activitatea bolii la pacienții pediatrici cu afecțiuni cronice. Explorarea indicilor derivați din hemoleucogramă ca potențiali biomarkeri inflamatori abordează această zonă și oferă șansa îmbunătățirii managementului clinic. Prin urmare, teza de față se concentrează pe utilitatea investigațiilor biologice ale copiilor cu obezitate și AIJ, evaluând parametrii și indicii derivați din hemoleucogramă și corelația acestora cu biomarkeri cunoscuți.

Având în vedere implicarea trombocitelor în disfuncția endotelială, care caracterizează afecțiunile asociate obezității, cum ar fi tensiunea arterială crescută și

insulinorezistența, precum și valorile lor crescute la copiii cu AIJ activă, studiul prezent se concentrează pe un indice derivat din HLG care încorporează trombocitele, și anume Indicele Imun Inflamator Sistemic (IIS).

Scopul acestei cercetări constă în evaluarea capacității indicilor derivați din HLG, în special IIS, de a reflecta prezența inflamației sistemice la copiii diagnosticați cu obezitate și AIJ. Pentru aceasta, s-au utilizat informațiile din dosarele medicale ale pacienților internați la Spitalul de Urgență pentru Copii „Louis Țurcanu” din Timișoara, unul dintre cele mai mari spitale pediatrice din România. Acest proces a respectat principiile enunțate în Declarația de la Helsinki (1975, revizuită în 2013) și a fost aprobat de Comitetul de Etică Instituțional.

Partea specială își propune să investigheze valoarea aplicativă a biomarkerilor derivați din hemoleucogramă în bolile cronice cu substrat inflamator, precum obezitatea și artrita idiopatică juvenilă. În realizarea scopului propus, au fost stabilite următoarele obiective, pe baza cărora s-au structurat următoarele direcții de cercetare:

1. examinarea relației dintre biomarkerii inflamatori derivați din hemoleucogramă, în special a Indicelui de Inflamație Imună Sistemică, și prezența sindromului metabolic la copiii obezi.
2. explorarea valorii diagnostice a Indicelui de Inflamație Imună Sistemică în artrita idiopatică juvenilă, precum și a valorii sale predictive prin corelarea cu severitatea bolii.

## CONTRIBUTII PERSONALE

### STUDIUL I. Evaluarea relației dintre de Indicele de Inflamație Imună Sistemică și sindromul metabolic la copiii cu obezitate

#### Rezultate:

După revizuirea retrospectivă a dosarelor electronice ale pacienților, au fost identificați 329 de pacienți diagnosticați cu obezitate în perioada ianuarie 2015 - februarie 2023. Am exclus 138 de pacienți din cauza infecțiilor active concomitente în momentul internării, comorbidităților cunoscute pentru a altera parametrii hematologici și datelor antropometrice sau de laborator incomplete, rezultând un grup de studiu format din 191 de copii (110 băieți, 80 fete), cu o vârstă mediană de 13 ani (intervalul interquartil [IQR]: 11-15 ani).

Datele clinice colectate din fișele medicale au inclus informații demografice și măsurători antropometrice (greutate, înălțime, circumferința abdominală, greutate pentru înălțime și înălțime pentru vârstă raportate la graficele naționale de creștere) și tensiunea arterială. Analizele de sânge, efectuate după un post negru de 8 ore, au inclus HLG, glicemie, colesterol total, lipoproteinele cu densitate înaltă (HDL-C), lipoproteinele cu densitate mică (LDL-C), trigliceride și insulinemie. De asemenea, au fost calculați următorii indici derivați din HLG: raportul neutrofile/limfocite, raportul trombocite/limfocite, IIS (numărul de trombocite  $\times$  NLR), și SIRI (numărul de neutrofile  $\times$  numărul de monocite/numărul de limfocite). HOMA-IR a fost calculat folosind formula: insulină à-jeun [ $\mu$ U/mL]  $\times$  glucoză a-jeune [mmol/L]/22.5. Raportul TG:HDL-C a fost calculat ca trigliceride (mg/dL) împărțit la nivelul de HDL-C (mg/dL), iar non-HDL-C a fost calculat prin scăderea HDL-C (mg/dL) din colesterolul total (mg/dL). În funcție de acestea, pacienții au fost încadrați în două grupuri: 66 de pacienți diagnosticați cu sindrom metabolic conform criteriilor IDF (grupul MetS) și 125 fără sindrom metabolic (nonMetS).

Prevalența MetS a fost de 34.5%. Ambele grupuri au fost similare în ceea ce privește vârstă și sex ( $p > 0.05$ ). În întreaga populație de studiu, nivelul scăzut de HDL-C a fost cea mai frecventă componentă întâlnită în MetS (40.8%), urmată de hipertensiune și trigliceride crescute (ambele 23.5%). Hiperglicemia a fost cel mai rar întâlnită (16.7%). Au existat valori semnificativ mai mari ale leucocitelor, neutrofilelor



și trombocitelor în grupul MetS ( $p < 0.001$ ), în timp ce limfocitele și monocitele nu au prezentat diferențe semnificative ( $p = 0.649$  și  $p = 0.112$ , respectiv).

Toți indicii derivați din HLG au arătat o creștere semnificativă la pacienții cu MetS în comparație cu cei fără MetS. Diferența cea mai remarcabilă au înregistrat-o valorile IIS, având o valoare dublă la pacienții cu MetS (711 [483.18-902.45]) în comparație cu grupul non-MetS (355.79 [277.43-467]). Am efectuat corelația Spearman, care a dovedit că din cei patru indici derivați din HLG, IIS a fost singurul indice care s-a corelat cu toți markerii cardiometabolici evaluați.

De asemenea, s-a efectuat o analiză de regresie logistică binară pentru a examina asocierea dintre IIS și prezența MetS. IIS și raportul TG s-au dovedit a fi singurii indici semnificativ asociați cu MetS ( $p < 0.001$ ).

Capacitatea de diagnostic a IIS, SIRI, HOMA-IR, raportului TG și non-HDL-C în predicția MetS a fost de asemenea investigată în acest studiu. IIS a prezentat cea mai mare capacitate discriminativă pentru sindromul metabolic, cu o valoare prag a IIS de  $426 \times 10^3$  și o suprafață sub curbă, o sensibilitate și o specificitate de 0.843, 0.83, respectiv 0.63. Analiza curbei ROC a relevat o capacitate discriminativă similară pentru TG, cu o valoare prag de 1.786 și o sensibilitate de 0.81, deși cu o specificitate mai mică (0.50).

## **STUDIUL II. Evaluarea performanței diagnostice a Indicele de Inflamație Imună Sistemică în artrita inflamatorie la copii: un accent pe diferențierea artritei idiopatice juvenile de artrita reactive**

### **Rezultate:**

Grupul de studiu a inclus în total 245 de copii cu artrită sau artralгии. Am exclus cazurile cu artrită septică, artrită Lyme, infecțiile active, afecțiunile care alterează parametrii hematologici și pacienții cu date incomplete, rezultând o populație de studiu de 108 pacienți.

Acești pacienți au fost împărțiți în două grupuri: 70 de pacienți cu AIJ și 38 de pacienți diagnosticați cu artrită reactivă (ARe). Subtipurile de AIJ au fost identificate pe baza criteriilor de clasificare Liga Internațională a Asociațiilor pentru Reumatologie (ILAR). Cele mai prevalente subtipuri AIJ au fost entezita asociată artritei (ERA), cu un procent de 31,4%, Oligoartrita (27,1%) și Poliartrita seronegativă (20%). Nu au fost observate diferențe semnificative în distribuția pe sex între cele două grupuri de studiu. Copiii din grupul Are au avut tendința de a fi mai tineri, cu o vârstă mediană de 7,7 ani

(IQR: 3,5, 11,9), în timp ce pacienții din grupul AIJ au avut o vârstă mediană de 12,1 ani (IQR: 7,6, 14,5). Afectarea oligoarticulară a fost predominantă în ambele grupuri de studiu.

Grupurile AIJ și ARe au fost similare în ceea ce privește numărul de leucocite, hemoglobina și lățimea distribuției eritrocitelor. Cu toate acestea, pacienții cu AIJ au avut semnificativ mai multe trombocite ( $p < 0,001$ ), neutrofile ( $p = 0,046$ ) și monocite ( $p = 0,025$ ), și semnificativ mai puține eozinofile ( $p = 0,049$ ). De asemenea, a existat o tendință non-semnificativă statistic către un număr mai mic de limfocite la pacienții cu AIJ ( $p = 0,090$ ). În plus, atât NLR, cât și IIS au înregistrat valori mai mari la copiii cu AIJ în comparație cu cei cu ARe.

Corelația Spearman a fost utilizată pentru a evalua relația dintre IIS și NLR cu diverși parametrii biochimici în grupul AIJ. Ambii indici au prezentat corelații pozitive semnificative: NLR s-a corelat pozitiv puternic cu CRP-ul și moderat cu fibrinogenul. Similar, IIS a înregistrat corelație pozitivă puternică cu CRP și fibrinogen, și moderată cu VSH. În grupul ARe, atât NLR cât și IIS au înregistrat corelații pozitive mai slabe cu CRP. Regresia logistică binară a relevat faptul că atât NLR cât și IIS erau corelate cu AIJ. Cu toate acestea, după ajustarea pentru vârstă, doar IIS a rămas independent asociat cu AIJ ( $p = 0,030$ ).

Conform analizei caracteristicilor de operare ale receptorului IIS a avut o precizie diagnostică acceptabilă pentru AIJ, cu o suprafață sub curba (AUC) de 0,703 ( $p < 0,001$ ). NLR și VSH au avut capacități de discriminare juste, dar semnificative (AUC: 0,668 și 0,644, respectiv). Capacitatea de discriminare a IIS a depășit cea a fiecare dintre parametrii săi componentă din HLG în capacitatea de discriminare.

### **STUDIU III. Examinarea relației dintre Indicele de Inflamație Imună Sistemică și severitatea bolii în artrita idiopatică juvenilă**

#### **Rezultate:**

După aplicarea criteriilor de includere și excludere, datele de la 74 de copii diagnosticați cu artrită idiopatică juvenilă conform criteriilor de clasificare stabilite de ILAR au fost incluse în acest studiu. Pacienții au fost împărțiți în trei grupuri de studiu pe baza scorului lor de activitate a artritei juvenile (JADAS10), 35,1% cu activitate scăzută a bolii (grupul LDA), 28,4% cu activitate moderată a bolii (grupul MDA) și 36,5% cu activitate ridicată a bolii (grupul HDA). Vârsta mediană a populației de studiu a fost de 13 ani (IQR: 9-15,6), iar durata mediană a bolii a fost de 1,2 ani (IQR: 0,6-

2,7). Distribuția pe gen nu a fost semnificativ diferită între grupurile de studiu ( $p=0,136$ ). Cele mai comune subtipuri ILAR au fost ERA (32,4%) și AIJ oligoarticulară (29,7%). Cei mai mulți pacienți au prezentat afectare oligoarticulară (60,8%). Așa cum era de așteptat, pe măsură ce a crescut severitatea bolii, au înregistrat o creștere semnificativă toți parametrii activității bolii și toți markerii biochimici inflamatori evaluați, în special VSH și CRP.

Numărul de articulații active și evaluările globale ale medicului și părintelui s-au corelat cu markerii inflamatori. Grupul HAD a prezentat un număr median de două articulații active, grupul MDA o singură articulație active, iar grupul LDA nu a prezentat articulații active. Similar, scorul de evaluare globală a medicului a scăzut de la șapte în HDA la patru în MDA și unu în LDA. Evaluarea globală a părintelui a urmat o tendință similară, cu scoruri care au scăzut de la opt în HDA la cinci în MDA și doi în LDA. O creștere progresivă semnificativă a numărului absolut de leucocite, neutrofile și trombocite a fost evidentă odată cu creșterea severității bolii. Un model similar a fost observat și pentru indicii hematologici, NLR și IIS, care au crescut odată cu severitatea bolii. Analiza de corelație Spearman a explorat legătura între indicii hematologici și variabilele care constituie scorul JADAS10. În mod semnificativ, NLR și IIS au prezentat corelații pozitive semnificative cu toți parametrii de activitate a bolii, cu IIS demonstrând o asocieră mai puternică. Ambii indici s-au corelat cel mai puternic cu CRP și cea mai puțin cu numărul de articulații active. În plus, o corelație robustă a fost găsită exclusiv între IIS și mediana scorului JADAS10 ( $p=0,697$ ).

Analiza de regresie liniară a fost folosită pentru a investiga asocieră dintre IIS și JADAS10. Analiza univariată a relevat asocieri semnificative între JADAS10 și mai multe variabile, inclusiv IIS, CRP și fibrinogen. Cu toate acestea, în analiza de regresie liniară multiplă, doar IIS și CRP au rămas factori independent asociați cu JADAS10.

În plus, am evaluat performanța diagnostică a IIS în identificarea activității ridicate a bolii, comparând-o cu cea a diversilor parametrii hematologici și cu NLR. CRP a înregistrat cea mai mare precizie pentru activitatea ridicată a bolii ( $AUC=0,841$ , sensibilitate de 81% și specificitate de 79%), urmată aproape de IIS ( $AUC=0,827$ , sensibilitate de 82% și specificitate de 66%). Numărul de trombocite a prezentat, de asemenea, o capacitate de discriminare excelentă ( $AUC=0,809$ , sensibilitate de 77% și specificitate de 62%), în timp ce neutrofilele și NLR au demonstrat o capacitate de discriminare acceptabilă ( $AUC=0,729$  și  $AUC=0,761$ , respectiv).

## CONCLUZII

Studiile individuale care stau la baza acestei teze de doctorat, reprezentând o evaluare desfășurată pe parcursul a 5 ani, au relevat aspecte interesante referitoare la copiii cu boli cronice cu substrat inflamator:

IIS a demonstrat utilitate diagnostică în identificarea pacienților cu sindrom metabolic în grupul copiilor obezi și a prezentat corelații cu biomarkerii de risc cardio-metabolic. Bazându-ne pe aceste constatări, se poate presupune că IIS, ca biomarker inflamator, poate juca un rol suplimentar în măsurarea instabilității metabolice în această populație. **(Lucrarea I)**

IIS a demonstrat o precizie diagnostică moderată în distingerea pacienților cu AIJ activă de cei cu artrită din alte cauze, în special artrita reactivă. Având în vedere că indicele este derivat din hemoleucogramă, o analiză larg disponibilă și cost-eficientă, se poate presupune că ar oferi o valoare adițională în diferențierea pacienților cu AIJ, în special în situația în care rezultatele serologice sunt negative. **(Lucrarea II)**

IIS a prezentat o creștere graduală corespunzătoare severității bolii la copiii cu AIJ. Mai mult, IIS a demonstrat o asociere independentă cu starea de activitate ridicată a bolii. Într-o eră în care există o focusare asupra analizelor complexe, cum ar fi explorarea chemokinelor și a altor markeri biologici, analizele de sânge de rutină, care sunt larg accesibile, sunt uneori neglijate. Având în vedere accesul limitat la tehnologii avansate în majoritatea centrelor medicale, rezultatele studiului subliniază valoarea complementară a analizelor rutiniere de sânge, în special HLG. Deoarece IIS reflectă modificări în diverse linii celulare inflamatorii implicate în patogenезa AIJ, descoperirile noastre pledează pentru a lua în considerare IIS ca un instrument suplimentar în evaluarea activității bolii la copiii cu AIJ. **(Lucrarea III)**

În concluzie, studiile din cadrul acestei teze sugerează că IIS poate fi un indicator valoros al severității fenomenului inflamator, reflectând gradul de inflamație în boli cronice pediatrice precum obezitatea, sindromul metabolic și artrita idiopatică juvenilă.