

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„VICTOR BABEȘ” DIN TIMIȘOARA
FACULTATEA DE MEDICINĂ
Departamentul XII**

ȘOROP VIRGILIU-BOGDAN



**MALFORMAȚII EMBRIONARE. CONDUITA ȘI
TRATAMENTUL CORELATE CU STUDIILE PRECLINICE
ȘI CLINICE**

REZUMAT

Conducător științific

PROF. UNIV. DR. ANASTASIU DORU MIHAI

**Timișoara
2021**

CUPRINS

LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE	Error! Bookmark not defined.
LISTA CU ABREVIERI ȘI SIMBOLURI	Error! Bookmark not defined.
LISTA CU FIGURI ȘI TABELE	Error! Bookmark not defined.
DEDICAȚIE	Error! Bookmark not defined.
MULȚUMIRI	Error! Bookmark not defined.
INTRODUCERE	Error! Bookmark not defined.
PARTEA GENERALĂ	4
CAPITOLUL 1. EMBRIOLOGIA	4
1.1. Introducere	4
1.2. Epidemiologia malformațiilor fetale la naștere	5
1.2.1. Provocările practice ale epidemiologiei malformațiilor fetale la naștere	5
1.3. Diagnosticul prenatal al malformațiilor	6
1.4. Diagnosticul prenatal al anomaliilor fosei posterioare	13
1.5. Tipuri de afectare embrionară cerebeloasă	14
CAPITOLUL 2. MODELE EXPERIMENTALE UTILIZATE ÎN STUDIUL MALFORMAȚIILOR EMBRIONARE	19
2.1. Introducere	19
2.2. Embrioni de diferite specii pentru studiul embriologiei normale	20
2.3. Preocupări biologice cu privire la selecția modelelor de animale pentru testarea teratogenă	22
2.3.1. Aspecte etice și biologice legate de modelele animale	23
2.3.2. Sensibilități specifice pentru testele teratogene	25
CAPITOLUL 3. FACTORI CU IMPACT ASUPRA SARCINII ȘI/SAU DEZVOLTĂRII ACESTEIA	27
3.1. Folații	27
3.2. Radiațiile ultraviolete și hormonii	29
PARTEA SPECIALĂ	Error! Bookmark not defined.
CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII LEGATE DE SPECIFICITATEA PUBLICAȚIILOR ASOCIATE MALFORMAȚIILOR EMBRIONARE	31
4.1. Noțiuni introductive	31
4.2. Materiale și metode	34
4.2.1. Selecția bazelor de date și criteriile de aplicare	34
4.3. Rezultate și discuții	35
4.3.1. Defectele de tub neural	35
4.3.1.1. Defectele de tub neural, folatul și prevenția primară	43
4.3.2. Anomalii faciale	44
4.3.3. Anomalii ale extremităților	45
4.4. Concluzii	48
CAPITOLUL 5. CONTRIBUȚII LEGATE DE ABORDAREA MALFORMAȚIILOR EMBRIONARE <i>IN VITRO</i> ȘI <i>IN VIVO</i> PRIN INTERMEDIUL FOLAȚILOR	49
5.1. Introducere	49
5.1.1. Transportul de la folat la făt	52
5.1.2. Structurile chimice ale folaților	52
5.2. Materiale și metode	53
5.2.1. Reactivi	53
5.2.2. Testarea in vitro	53

5.2.3. Testarea in ovo – tehnica CAM	54
5.2.4. Date statistice	55
5.3. Rezultate și discuții	55
5.3.1. Perspective chimice	55
5.3.2. Viabilitatea celulară	57
5.3.3. Potențialul angiogen	61
5.4. Concluzii	66
CAPITOLUL 6. STUDIU IN VIVO LEGAT DE ASOCIEREA HORMONILOR SINTETICI CU RADIAȚIILE	66
6.1. Introducere	66
6.2. Materiale și metode	68
6.2.1. Modelul animal experimental	68
6.2.2. Măsurarea parametrilor fiziologici, serologici și hematologici	70
6.2.3. Evaluarea histopatologică	69
6.2.4. Analiza statistică	70
6.3. Rezultate și discuții	70
6.3.1. Modificări observate la nivelul parametrilor fiziologici	70
6.3.2. Modificări observate la nivelul parametrilor serologici și hematologici	72
6.3.3. Modificări observate la nivel de organ	73
6.4. Concluzii	81
CAPITOLUL 7. CONTRIBUȚII LA EVALUAREA STATISTICĂ A INCIDENȚEI RISULUI DE DEZVOLTARE A SINDROMULUI DOWN ÎN ZONA DE SUD- VEST A ROMÂNIEI.....	82
7.1. Introducere	82
7.2. Materiale și metode	84
7.3. Rezultate și discuții	85
7.4. Concluzii	93
CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE.....	94
BIBLIOGRAFIE.....	98

REZUMAT

Malformațiile embrionare sunt multiple, iar factorii care contribuie la apariția lor sunt variabili, diagnosticul și tratamentul acestora fiind o provocare pentru specialiștii în domeniu. Problema cea mai mare în cercetarea malformațiilor embrionare o reprezintă lipsa materialului de studiu. În ciuda celor descrise, încă nu există un acord general cu privire la momentul, de ce și cum se realizează dezvoltarea anormală. În zilele noastre, evaluarea embriologică a numeroase anomalii congenitale la specia umană este încă o problemă de speculație, în special datorită lacunelor în cunoașterea deficitară a tuturor factorilor implicați, în ciuda dezvoltării extraordinare a tehnologiei. Ca urmare, multe malformații tipice nu sunt încă explicate în mod satisfăcător, iar personalul medical din toate specialitățile este încă suficient de confuz atunci când se confruntă cu fondul dezvoltării embriologice normale și anormale. Diagnosticarea unei malformații embrionare are un impact major atât asupra mamei, familiei dar și asupra sistemului de sănătate care trebuie să gestioneze eficient situația delicată din punct de vedere economic, social și medical. Prin urmare, pentru un diagnostic clar și rapid și un tratament adecvat este necesară studierea tuturor aspectelor care țin în primul rând de factorii declanșatori, mecanismele implicate și tratamentele selectate.

Lucrarea de față tratează un subiect de mare interes, atât la nivel local, regional, național și internațional, și anume cel al malformațiilor embrionare. Studiile de cercetare asupra acestui subiect sunt numeroase și totodată foarte diversificate. Materialul este structurat conform normelor de redactare în trei părți principale: (1) partea generală, (2) partea specială și (3) concluziile și contribuțiile proprii. În partea generală sunt redată cele mai noi aspecte legate de: (a) embriologie – epidemiologia defectelor la naștere, diagnosticul prenatal al malformațiilor, (b) dezvoltarea cerebelului – diagnosticul prenatal al anomaliilor fosei posterioare, tipuri de afectare embrionară cerebeloasă, (c) modele animale utilizate pentru embriologie aplicată – embrioni de diferite specii pentru studiul embriologiei normale, modele chirurgicale, modele chimice, modele genetice și preocupări biologice cu privire la selecția modelelor de animale pentru testarea teratogenă și (d) influența hormonilor sintetici în posibila apariție și dezvoltare a malformațiilor embrionare. Partea specială este structurată pe patru mari capitole, câte un capitol dedicat fiecărei direcții originale de cercetare abordată: (a) contribuții legate de specificitatea publicațiilor asociate malformațiilor embrionare în bazele de date specifice, (b) contribuții legate de

abordarea malformațiilor embrionare *in vitro* și *in vivo* prin intermediul folaților, (c) studiu *in vivo* legat de asocierea hormonilor sintetici cu radiațiile ultraviolete și (d) contribuții la evaluarea statistică a incidenței riscului de dezvoltare a sindromului Down în zona de sud-vest a României.

Tema abordată este una de actualitate care se încadrează în preocupările internaționale și naționale deoarece tratează un subiect care afectează milioane de femei din întreaga lume, din medii sociale diferite și care necesită abordarea și adaptarea diagnosticării și tratării în funcție de proveniență, gravitate și politicile aplicate la nivelul fiecărei societăți. Malformațiile fetale reprezintă principala cauză a decesului antepartum, intrapartum sau postpartum la nivel mondial. Investigația lor epidemiologică a fost determinată de recunoașterea sindromului de rubeolă congenitală și a focomeliei legate de talidomidă. Specialiștii în domeniu necesită date relevante despre malformațiile fetale la naștere, ca bază pentru raportarea propriilor rezultate.

Obiectivele specifice ale lucrării au fost reprezentate de: (1) documentarea riguroasă prin intermediul diferitelor baze de date științifice – Pubmed, Science Direct, De Gruyter, Wiley Online Library și Cochrane Library în vederea identificării informațiilor specifice de actualitate; (2) testarea anumitor compuși frecvent utilizați în tratamentele aferente anomaliilor embrionare (folați) dar și a celor care ținesc aceeași receptori și pot exercita un dublu efect cu urmări nefavorabile (anti-folați) prin metode *in vitro* și *in vivo*, (3) evaluarea *in vivo* prin teste specifice pentru cuantificarea parametrilor fiziologici, serologici și analiza histopatologică a influenței hormonilor sintetici în prezența radiațiilor și (4) screeningul în vederea diagnosticării trisomiei 21 prin corelarea markerilor sonografici și serici alături de vârsta maternă, pe o perioadă de patru ani la gravidele din zona de Sud-Vest a României.

Metodele de cercetare adoptate în lucrarea de față sunt folosite în prezent în diferite studii de cercetare la nivel internațional. Studiul în bazele de date științifice a presupus selectarea termenilor cheie specifici pentru o selecție avansată a publicațiilor în vederea găsirii celor mai relevante informații. Studiul *in vitro* s-a realizat pentru keratinocitele și fibroblastele umane prin metoda colorimetrică Alamar Blue (eficientă, rapidă și economică) care presupune evaluarea activității mitocondriale a celulelor și cuantificarea numărului de celule viabile în prezența acizilor folic, dihidrofolic și tetrahidrofolic, metotrexatului și combinațiilor dintre aceștia. Efectele exercitate asupra procesului de angiogeneză, s-au realizat prin testul CAM, o tehnică *in vivo* simplă și ușor de aplicat care

implică utilizarea ouălor de pui fecundate și se realizează în mai multe etape fiind analizate reacțiile particulare induse de compuși: hemoragie, liză vasculară, coagulare stabilindu-se un scor de iritare. Importanța suplimentării cu folat în timpul sarcinii, în special pentru prevenirea defectelor tubului neural la făt este recunoscută dar, există o serie de controverse legate de alte beneficii posibile ale acestei suplimentări și diferitele forme moleculare de folat care ar trebui administrate. Suplimentarea cu folat este o practică medicală frecventă, dar personalul de specialitate nu ține cont permanent de mecanismele farmacodinamice care stau la baza beneficiilor pentru sănătate ale folatului. Dezvoltarea și creșterea adecvată a fătului și prezența bolilor sunt legate de greutatea la naștere, durata sarcinii și locația geografică. S-a găsit o relație semnificativă între nașterea prematură, greutatea mică la naștere și sistemul imunitar precar, prezența infecțiilor, deficit de vitamina D și dezechilibre hormonale asociate perioadelor pre- și post-concepție. În funcție de condițiile meteorologice, în special asociate diferitelor anotimpuri, pot fi corelate efecte psihologice, biologice și comportamentale, fiind afectată inclusiv ovulația și sarcina. Radiațiile ultraviolete joacă un rol principal, iar cantitatea de radiații solare ultraviolete este variabilă și diferită în funcție de anotimpuri. Studiul *in vivo* legat de evaluarea acțiunii hormonilor sintetici s-a realizat pe model animal. Parametri fiziologici ai pielii au fost analizați prin metode non-invazive, parametrii serologici prin teste biochimice uzuale și evaluarea histopatologică a organelor prin metode uzuale de colorare cu hematoxilină/eozină și analiză microscopică. Screeningul pentru identificarea riscului de dezvoltare a trisomiei 21 (sindromului Down) s-a efectuat pe o perioadă de patru ani de zile și s-a măsurat translucența nucală (TN, marker sonografic), valorile proteinei A plasmatică asociată sarcinii (PAPP-A) și gonadotrofinei corionice beta umană liberă (β HCG) făcându-se corelarea cu diferiți factori precum vârsta maternă, statutul de fumătoare/nefumătoare, tipul sarcinii și existența sau nu a diabetului.

După cum s-a menționat anterior, pentru studiul practic lipsa materialului este o problemă majoră. În prezent, cercetările se derulează pe diferite direcții, atât *in vitro*, *in silico* și *in vivo*. Orice contribuție adusă din aceste direcții este una importantă deoarece contribuie la realizarea unui tot cât mai unitar care în final are drept scop înțelegerea aprofundată, prevenirea și abordarea cât mai corectă a acestor tipuri de afecțiuni.

În urma studiului bazelor de date specifice pentru a analiza literatura de specialitate în ceea ce privește specificitatea publicațiilor asociate malformațiilor embrionare, s-a ajuns

la concluzia că, bazele de date oferă o serie de informații importante legate de subiectul malformațiilor embrionare. Importanța utilizării termenului/termenilor cheie specifici este una de notorietate deoarece doar printr-o utilizare corectă avansată se poate accede la ultimele informații din domeniu. În ceea ce privește malformațiile embrionare cele asociate sindromului Down sunt cele mai frecvente. În ciuda acestui fapt, progresele din ultimii ani nu sunt unele răsunătoare, iar conștientizarea populației vis-a-vis de importanța dispensarizării corecte a sarcinii, alături de testarea în masă reprezintă cele mai bune variante de abordare a acestei probleme medicale. Bazele de date Pubmed, Science Direct și Wiley Online Library conțin un număr însemnat de publicații, în special dedicate unui anumit termen cheie, în schimb baza de date Cochrane oferă mult mai puține informații referitoare la un anumit termen cheie dar însumează informații din mai multe articole și baze de date clinice.

Grupul folaților, numiți și vitamina B9, aparțin familiei de vitamine B hidrosolubile și sunt alcătuiți din structuri chimice derivate din poliglutamați. Folații sunt micronutrienți esențiali pentru funcțiile celulare, creștere și dezvoltare. În timpul sarcinii, cererile de folați cresc de 5 până la 10 ori, datorită importanței lor în procese precum vasculogeneza și angiogeneza, ambele procese cheie în funcția placentară, creșterea fătului și dezvoltarea acestuia. Dovezile acumulate pe parcursul anilor indică faptul că, riscurile de dezvoltare defectă sunt semnificativ reduse de suplimentarea adecvată a folatului în perioada atât preconcepție cât și pe parcursul primului trimestru de sarcină. În lucrarea de față, viabilitatea celulelor sănătoase, keratinocitelor și fibroblastelor umane a fost evaluată în prezența a trei folați (acizi folic - AF, dihidrofolic - DHF și tetrahidrofolic - THF), un anti-folat (metotrexat - MTH) și combinații între aceștia, prin testul Alamar blue. Potențialul antiangiogen a fost, de asemenea, evaluat prin tehnica *in ovo*, testul CAM. Datele au relevat că MTH a indus o ușoară scădere a keratinocitelor la cele mai mari concentrații testate, activitatea a fost dependentă de doză și niciunul dintre compuși nu a exercitat o toxicitate semnificativă. Chiar și în cazul combinației de două tipuri de compuși, folat cu anti-folat, nu a existat o scădere semnificativă a numărului de celule viabile. Fibroblastele umane în prezența folaților nu au prezentat modificări semnificative ale viabilității, acidul dihidrofolic a avut o influență mai pronunțată asupra viabilității comparativ cu ceilalți doi folați (acizii folic și tetrahidrofolic) testați. În cazul testării combinațiilor dintre metotrexat și acizii folic, dihidrofolic și respectiv tetrahidrofolic, procente de viabilitate au variat

după cum urmează: combinația AF:MTH (1:2) a redus viabilitatea fibroblastelor la aproximativ 89%, THF:MTH (1:2) până la aproximativ 79% și efectul cel mai pronunțat a fost observat în combinația DHF:MTH (1:2) unde s-a înregistrat o scădere de până la 68%. Reacțiile care implică folatul sunt de o importanță majoră, mai ales dacă avem în vedere că inhibarea transportorilor duce la efecte devastatoare, cum ar fi malformațiile la făt. În ciuda numeroaselor studii din ultimii ani care au implicat administrarea de folat pentru a reduce defectele la făt și nu numai, există tot mai multe studii care asociază folatul cu progresia proceselor tumorale. Astfel, este necesar să se evidențieze reacțiile implicate și să se elucideze anumite efecte în contextul asocierii mai multor factori care sunt fie benefici pentru corectarea anumitor defecte, fie devastatori pentru replicarea celulară. Studiile efectuate necesită o corelație cu experimentele care implică stres oxidativ pentru o mai bună înțelegere a importanței administrării compușilor pentru prevenire, dar și a compușilor pentru vindecare. De cele mai multe ori pentru prevenirea malformațiilor embrionare se recomandă administrarea de folat pentru viitoarea mamă sau pentru gravida aflată la începutul primului trimestru de sarcină. Pentru a stabili recomandările optime cu privire la administrarea de folat, trebuie luate în considerare efectele negative posibile produse, și anume: mascarea deficienței de vitamina B12 și un posibil metabolism deficitar cu creșterea compusului nemetabolizat care poate duce la aberanță și deficiență, proliferare cu consecințe patologice grave. Atât folații cât și antifolații pot produce modificări semnificative la nivel de celulă care într-un final au consecințe nefaste, fie asupra fătului, fie asupra mamei. Studiile *in vitro* oferă dovezi ale efectelor adverse ale deficienței de folat asupra funcției placentare. Pentru a elucida mecanismul exercitat de compușii menționați și combinația acestora, a fost analizat efectul angiogen aplicând testul CAM iar datele obținute au indicat că folații au fost cel mai bine toleranți, neinducând modificări asupra procesului angiogen normal, pe când metotrexatul a evidențiat o densitate a vaselor ușor mai mare, dar fără a induce toxicitate asupra arhitecturii și funcționalității vasculare. Procesul angiogenezei placentare este crucial în menținerea unui flux de sânge adecvat la dezvoltarea fătului, modificarea acestuia ducând la efecte devastatoare pentru mamă și făt. Folații împreună cu acizii grași modulează receptorii specifici în timpul angiogenezei placentare atât direct (prin factori angiogenici) cât și indirect (prin module specifică).

Etinilestradiolul (EES), un estrogen chimic este substanța activă cea mai frecvent utilizată în formulările hormonale orale ale medicamentelor contraceptive la nivel mondial. Levonorgestrelul (LNG), un hormon progestogenic sintetic, este utilizat în mod obișnuit în sistemele intrauterine care eliberează LNG pentru efectul său contraceptiv puternic.

Studiul efectuat în lucrarea de față se bazează pe teoria conform căreia multe femei se expun voluntar la cantități potențial dăunătoare de lumină UVB simultan cu utilizarea contraceptivelor hormonale. În același timp, unele utilizează intenționat produse pe bază de estrogen, mai ales că majoritatea celor cu aplicare topică fac parte din categoria medicamentelor fără prescripție medicală și sunt ușor de procurat. În cercetările experimentale actuale, s-a studiat evaluarea efectelor *in vivo* ale: (i) EES, (ii) LNG și (iii) asocierii dintre EES și LNG pe șoareci expuși timp de 21 de zile la radiații UVB, urmărindu-se parametrii fiziologici ai pielii evaluați prin metode neinvazive, parametrii clinici și hematologici și evaluarea histopatologică. În acest studiu, nu a fost înregistrat niciun deces în trei săptămâni de monitorizare în toate cele patru grupuri de animale de experiență utilizate. Au fost observate modificări sau diferențe nesemnificative în ceea ce privește aspectul general și procentul de greutate al șoarecilor. Parametrii serici ai șoarecilor din toate grupurile au fost analizați pentru a monitoriza starea de sănătate hepatică și renală, și valori semnificative statistic, au fost înregistrate în grupurile care au implicat administrarea de hormoni și expunerea la UVB.

În grupul de animale supuse la UVB, s-au identificat următoarele: la nivelul rinichilor, capilarul corpusculilor renali a prezentat hiperemie ușoară și corpi bazofili în lumina unor tubuli renali; la nivelul plămânilor, au existat hiperemii vasculare moderate și puține celule inflamatorii au fost formate din limfocite mici și o îngroșare ușoară a septurilor alveolare; splina a prezentat hiperplazie moderată a pulpei roșii, depozite de hemosiderină în țesutul conjunctiv al stromei și hiperemie a vaselor subcapsulare; ficatul a prezentat infiltrat inflamator ușor la nivelul spațiilor portale, compus din limfocite mici și hiperemie a venei centrilobulare și a venulelor spațiului port iar exemplarele de inimă recoltate au prezentat histologie cvasi-normală cu urme de edem interstițial. În grupul de studiu în care șoarecii au fost expuși la radiații UVB și tratați cu EES, eșantioanele de rinichi recoltate au prezentat mai multe modificări: hiperemie a corpusculilor capilari renali și peritubulari, vacuolizarea porțiunii apicale a nefrocitelor și a corpurilor bazofili din sistemul tubular al nefronului; plămânii au prezentat îngroșarea septelor interalveolare, hiperemie a vaselor mici de septuri interalveolare, număr crescut de mastocite peribronșice

și emfizem compensator; splina hiperplazie ușoară a depozitelor de pulpă roșie și hemosiderină, în timp ce ficatul a prezentat hiperemie ușoară a venulelor din spațiile centrilobulare și portale și, de asemenea, capilare sinusoidale dilatate și vacuole cromofobe intracitoplasmatic; eșantioanele de inimă au prezentat edem interstițial. În cazul șoarecilor expuși la radiații UVB și tratați cu LNG, rinichii au prezentat hiperemie a corpusculilor renali capilari și capilare peritubulare; plămânii o îngroșare ușoară a septurilor interalveolare, hiperemia vaselor de sept interalveolare și infiltratul inflamator ușor au fost formate din limfocite; s-a observat și o hiperemie ușoară a vaselor subcapsulare; ficatul a prezentat hiperemie ușoară a venei centrilobulare și a vaselor din spațiile portale iar probele de inimă nu au prezentat modificări ale histologiei normale. În grupul în care animalele au fost expuse la UVB și tratate cu EES și LNG au fost observate cele mai multe modificări de organ. Astfel, la nivelul rinichilor s-au observat: corpuscul renal mic, atrofic, cu hiperplazie mezangială ușoară, hiperemie a capilarelor corpusculilor renali, cilindri hialini în unii tubuli nefronici și infiltrații acidofile în vasele arteriale. Plămânii au prezentat o îngroșare ridicată a septurilor interalveolare, cu hialinizare moderată a pereților arteriolari, hiperemie ușoară a vaselor mici de sept interalveolare. Prezentul studiu reprezintă un prim pas în analiza parametrilor fiziologici ai pielii corelați cu modificarea parametrilor biologici și evenimentele care au loc la nivel de organ cu expunerea la radiații UVB și administrarea substanțelor active din clasa contraceptivelor hormonale. S-a demonstrat că asocierea dintre cei doi hormoni, EES și LNG, în prezența radiației UVB, afectează atât parametrii pielii, cât și parametrii biochimici și a condus la modificări specifice ale organelor. Estrogenul fiind un promotor poate stimula proliferarea celulară cu efecte negative asupra ciclului celular cu consecințe ale replicării eronate. Sunt necesare studii viitoare pentru a investiga mecanismele implicate în prezența radiațiilor UVA, dar și o variație a vârstei, cu accent pe biomarkeri specifici care se corelează cu posibila apariție a proceselor maligne.

Tulburarea cauzată de trisomia cromozomului 21 este asociată cu o serie de anomalii fizice și dizabilități intelectuale. Peste 40% dintre copiii diagnosticați cu sindrom Down au o anomalie cardiacă majoră, în timp ce alte defecte congenitale majore fără leziuni cardiace sunt, de asemenea, frecvente. Prin urmare, un alt obiectiv major al lucrării de față a fost de a studia datele înregistrate pentru o perioadă de patru ani, pentru femeile însărcinate din sud-vestul României din zonele rurale. S-au realizat combinații de vârstă maternă, măsurarea grosimii TN fetale și evaluarea markerilor biochimici pentru a evalua

incidența a riscului asociat trisomiei 21, subliniind în același timp necesitatea implementării bazelor de date pentru evidențierea cazurilor de trisomie 21. Variațiile procentuale legate de incidența sindromului Down de la țară la țară și de la zonă la zonă sunt semnificative. În zonele rurale din România, accesul la serviciile medicale este mai limitat, iar aplicarea programelor de screening este o soluție pentru a contribui la o evaluare realistă a incidenței anomaliilor fetale asociate cu sindromul Down. Pentru a obține o performanță diagnostică îmbunătățită, s-a utilizat o combinație de teste, inclusiv vârsta maternă și evaluarea markerilor serici specifici sau combinații de vârstă maternă, markeri serici specifici și măsurători sonografice. Markerii individuali cu ultrasunete sau combinații ale acestora cu unul sau mai multe teste de markeri serici au fost examinați în primul trimestru, cu sau fără ajustare pentru vârsta maternă. În studiul de față, 269 de paciente au fost supuse investigațiilor (prin ultrasunete și cuantificarea markerilor serici - dublu test), între ianuarie 2015 și decembrie 2018.

Pacientele din grupa de vârstă 21-29 de ani au reprezentat cel mai semnificativ procent (56.1%), iar cel mai mic procent a fost reprezentat de pacientele cu vârsta peste 40 de ani (0.7%). În cei patru ani, corelați cu vârsta, opt minore s-au prezentat și ele la investigații: două în vârstă de 17 ani în 2015, trei în vârstă de 17 ani în 2016, două în vârstă de 16 ani în 2017 și o tânără de 16 ani în 2018. În ceea ce privește starea de fumătoare sau nu, din cele 269 de paciente incluse în prezentul studiu pentru anii 2015-2018, 31 dintre ele s-au declarat fumătoare, în timp ce restul de 238 au declarat că nu sunt fumătoare. Niciuna dintre paciente nu a fost raportată cu diabet zaharat. Din cele 269 de cazuri studiate, un procent de 5.6% au fost incluse în grupul de risc ($\geq 1:250$) și un procent de 1.5% a fost la limită (în intervalul de risc $1:251-1:300$). TN a fost inițial implementată pentru a aprecia probabilitatea unui făt cu sindrom Down. Vârsta maternă poate fi combinată cu dimensiunea TN fetale și biochimia serică maternă (β HCG liber și PAPP-A) la 11^{+0} până la 13^{+6} săptămâni pentru a identifica aproximativ 90% dintre feteșii afectați. În studiul de față, nu s-au înregistrat valori ale TN ≥ 3 . O valoare unică de 2.9 a fost înregistrată în 2015, pacienta a fost inclusă într-un grup de risc după asocierea cu markeri serici, vârsta și alți factori au fost luați în considerare. Valorile PAPP-A au fost determinate prin metode imunochimice de fluorescență bine cunoscute. Au existat doar 20 de valori MoM ≤ 0.5 pentru PAPP-A care ar putea semnaliza teoretic unele riscuri asociate (restricție de creștere intrauterină, naștere prematură, preeclampsie, avort spontan sau deces fetal la ≥ 24 săptămâni). Valorile β -hCG au fost, de asemenea, determinate prin metode imunochimice

de fluorescență bine cunoscute. Au existat valori de 23% ≥ 1.5 și din cele 269 de paciente incluse în grupul de risc 60% au avut valori ≥ 1.5 ale MoM asociate β -HCG. Screening-ul pe baza vârstei materne, TN fetală și cei doi markeri serici suplimentari au dus la o rată de detecție $\geq 85\%$ și o rată fals pozitivă de 3%.

Cercetarea de față necesită o continuitate pe cel puțin două direcții: (a) dezvoltarea unei baze de date pentru a contribui la un registru national care să centralizeze informații actuale legate de incidența și diagnosticarea trisomiei 21, nu doar în zona de Sud-Vest a țării și (b) evaluarea mecanismelor exercitate de compușii din clasa folaților utilizați frecvent de către femeile însărcinate dar și a anti-folaților utilizați de asemenea frecvent în cazul existenței anumitor patologii, ținând cont de dublul efect pe care îl pot exercita – fie benefic, fie negativ atât în prezența cât și în absența diferiților alți factori cum ar fi radiațiile ultraviolete.