

majore în profilaxia mortalității și morbidității postoperatorii a nou-născuților cu vicii congenitale.

2. Evitarea complicațiilor pre-, intra- și postoperatorii în MC majore la nou-născuți impune necesitatea unor acțiuni diagnostico-curative precece și corecte la toate etapele asistenței medicale.

3. Elaborarea unui standard de acțiuni în cadrul MC majore, pregătirea profesională corespunzătoare a cadrelor și asigurarea tehnico-materială a instituției sunt premisele de bază în lărgirea posibilităților curative radicale cu diminuarea morbidității și mortalității postoperatorii.

4. Soluționarea problemei diagnosticului și tratamentului MC majore la nou-născuți este prerogativa tuturor verigilor serviciilor medicale republicane, inclusiv a centrului de planificare a familiei, a centrelor teritoriale a medicilor de familie, centrelor de perinatologie și subunităților specializate de chirurgie pediatrică.

Bibliografie

1. **Bengt Kallen** Epidemiology of human congenital malformations. Springer Science & Business Media, 2013

2. **Boian Gavril** Optimizarea diagnosticului, tratamentului și profilaxiei malformațiilor congenitale în chirurgia pediatrică. Buletin de perinatologie, 2004, nr. 1, p. 33-37

3. **Jacob Daniela, Boia Marioara, Ilie C et al.** Methods to diagnose congenital malformations in newborns. Jurnalul pediatriei 2009, vol. XII, nr. 47-48, p. 10-15

4. **Kulaga Sophie, Bérard Anick** Congenital malformations: agreement between diagnostic codes in an administrative database and mothers' reports. J Obstet Gynaecol Can 2010;32(6): p. 549-554

5. **Queißer-Luft Annette, Spranger Jürgen** Congenital Malformations. Dtsch Arztebl 2006; 103(38): p. 2464-71

6. **Savona-Ventura Charles** Congenital malformations: a historical perspective in a Mediterranean community. Malta Medical Journal, 2007, Volume 19: p. 52-55

© Victoria Sacară, A.Levițchi, St. Groppa

Victoria Sacară¹, A.Levițchi², St. Groppa²

DIAGNOSTICUL MOLECULAR-GENETIC ÎN REPUBLICA MOLDOVA: ISTORIA ȘI PERSPECTIVE

¹ IMSP Institutul Mamei și Copilului (Director – dr. șt. med., conf. univ. S. Gladun)

² Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu" (rector – acad. AȘM Ion Ababii)

SUMMARY

MOLECULAR GENETIC DIAGNOSTICS IN MOLDOVA: HISTORY AND PERSPECTIVES

Keywords: molecular genetic diagnostics, rare diseases, gene, allele

The first group of specialists in molecular genetics included two assistant researchers. It was created in frame of the department for hereditary pathologies of the Scientific Research Institute of Mother and Child healthcare, under the leadership of the doctor Amoashii D., PhD, twenty five years ago. Major influence on the training of the moldavian young specialists played members of the Laboratory of Prenatal Diagnostic (leded by Preofessor Baranov B.S., corresponding member of the RAMS) from Scientific Research Institute of obstetrics and gynecology D.O. Otto, Sankt-Petersburg, Russian Federation, head of the laboratory, professor Barbacari N. from the Institute of Genetics ASM. First molecular genetics tests in Moldova (since 1992) were realized to detect mutations and analyze populational aspects of the polymorphism of two genes determining monogenic pathologies – Duchenne myodystrophy (Sacara V.) and haemophilia A and B (Romanova L.), phenylketonuria (Gavriliuc A.) and cystic fibrosis (Gimbovskaia S.), spinal muscular atrophy (Sacara V.). In 1997, under the leadership of the professor Groppa St., the national program "Improvement of the medical genetic service in Republic of Moldova. 1998-2005" was elaborated and later approved by the Ministry of Health, The program contained main strategies of regionalization and optimization of the medical genetic service structure, including the objective of the deepening of the molecular genetic investigations. As an entity in frame of the National Center of Reproductive Health and Medical Genetics, the laboratory of Human Molecular Genetics appeared in 2009. From 2010, there started the development of candidate genes allelic variants detection methods. Hereditary predisposition to frequent chronic diseases are determined by various genes, target ones being: MTHFR, MTRR, MTR, CBS, FV,

FII, FXIII, VKORCI, GpIIIaL33P, PAI-1, GSTM, GSTT, GSTP, ACE, eNOS, ApoB, ApoE, HLA DQA1 and DQB1. Genes with modification effects (MTHFR, MTRR, MTR, eNOS) were investigated for their role and association in case of DMD/B that helped in improvement of pathogenetic stages explanation of the abnormal processes, but also to develop a personalized approach in the treatment. Research investigations were supported through the governmental grants, provided through ASM, and international grants provided by MRDA, BMBF, DAAD and other funds. These support contributed to the skill development and experience gain in leading laboratories in Europe and USA.

РЕЗЮМЕ

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА В РЕСПУБЛИКЕ МОЛДОВА: ИСТОРИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Ключевые слова: молекулярно-генетическая диагностика, редкие заболевания, ген, аллель.

Двадцать пять лет назад, в рамках научного отдела наследственных патологий НИИ Охраны Здоровья Матери и Ребёнка под руководством доктора медицинских наук Д. Амоаший создана первая молекулярно-генетическая группа (2 младших научных сотрудников). Большой вклад в формирование молдавских специалистов оказали сотрудники Лаборатории Пренатальной Диагностики (заведующий лабораторией, член-корреспондент РАМН, профессор В.С. Баранов) Научно-исследовательского института акушерства и гинекологии им. Д.О.Отта, г. Санкт-Петербурга, РФ, а, также заведующий лабораторией Института Генетики РМ профессор Барбакарь Н. Первые молекулярно-генетические анализы (1992г.), проводимые в Молдове, были направлены на идентификацию мутаций и изучение популяционных особенностей полиморфизма генов при двух моногенных патологиях – миодистрофии Дюшенна (Сакарэ В.) и гемофилии А и Б (Романова Л.), фенилкетонурии (Гаврилюк А.) и муковисцидоза (Гимбовская С.), спинальной мышечной атрофии (Сакарэ В.). В 1997 году под руководством проф. Ст. Гроппа была разработана и в дальнейшем одобрена Министерством Здравоохранения РМ национальная программа «Совершенствование медико-генетической помощи в РМ. 1998-2005 года». В данной программе были представлены основные стратегии по регионализации и оптимизации структуры медико-генетической помощи, в том числе стояла задача углубления молекулярно-генетических исследований. В 2009 году была организована научная лаборатория Молекулярной Генетики Человека как самостоятельная единица в рамках Национального Центра Репродуктивного Здоровья и Медицинской Генетики. С 2010 года в лаборатории начаты разработки ДНК методов по определению аллельных вариантов генов-кандидатов, ответственных за наследственную предрасположенность человека к частым хроническим заболеваниям: MTHFR, MTRR, MTR, CBS, FV, FII, FXIII, VKORCI, GpIIIaL33P, PAI-1, GSTM, GSTT, GSTP, ACE, eNOS, ApoB, ApoE, HLA DQA1 и DQB1. Проведено исследование роли и ассоциаций генов модификаторов (MTHFR, MTRR, MTR, eNOS) при МДД/Б, что позволило дополнить патогенетические звенья данного патологического процесса и разработать тактику персонализированного лечения. Научные исследования лаборатории поддержаны государственными контрактами АНМ и грантами международных фондов MRDA, BMBF, DAAD и др., что позволило сотрудникам проходить стажировки и работать в ведущих лабораториях Америки и Европы.

Descifrarea genomului uman, proiect la care s-a lucrat ultimii 25 ani, a avut un impact major în dezvoltarea cercetării și a diagnosticului molecular-genetic în Republica Moldova.

Istoricul. Crearea laboratorului de diagnostic ADN în Republica Moldova a coincis în timp cu inițierea cercetărilor de amploare la nivel mondial – proiectul *Genomul Uman* – în 1990 cu scopul decodificării informației genetice. În 1991, în cadrul secției de patologii ereditare a IȘ OSMșiC, sub conducerea doctorului în științe medicale Dumitru Amoășii, a fost creată prima echipă ce-și propunea inițierea studiilor molecular-genetice, în componența a doi cercetători științifici stagiați: Victoria Sacară și Ludmila Romanova. Astfel, programul internațional *Genomul Uman* a servit drept fundal benefic pentru dezvoltarea activității științifico-practice a echipei molecular-genetice în direcția elaborării și implementării metodelor noi de diagnostic al patologiilor ereditare.

În contextul dat, este de menționat aportul important al membrilor Laboratorului de Diagnostic Prenatal (sub conducerea șefului de laborator DI Vladislav Baranov, profesor, membru corespondent al Academiei de Științe Medicale din Rusia) al Institutului de cercetări științifice în obstetrică și ginecologie D.O. Otto, Sankt-Petersburg, Federația Rusă, care au fost primii dascăli și inspiratori ai specialiștilor din R. Moldova. Aceste personalități au participat în realizarea cercetărilor de identificare a mutațiilor și studierea particularităților populaționale ale polimorfismului genelor, dereglările ce sunt cel mai frecvent implicate în patologii monogenice. Această direcție de cercetare, cu suportul membrilor echipei lui Baranov (T. Ivascenco, O. Artemieva, M. Asseev), a fost transmisă și echipei geneticienilor din R. Moldova. Primele testări molecular-genetice, efectuate în 1992, au avut drept scop identificarea mutațiilor și particularităților populaționale a două patologii monogenice frecvente – mi-

odistrofia Duchenne (direcție de cercetare realizată de V. Sacară) și hemofiliile A și B (studii realizate de L. Romanova) [1,2,3].

Totodată, un aport major în antrenarea tinerilor specialiști în realizarea investigațiilor cu utilizarea metodelor molecular-genetice l-a avut profesor Nicolae Barbacari, considerat promotorul geneticii moleculare în R. Moldova, care a implementat reacția polimerizării în lanț (*Polymerase Chain Reaction*, PCR) la începutul anilor 1990 în cadrul laboratorului condus de dnealui și în cadrul laboratorului condus de dr. L. Tumanov din cadrul Institutului de Genetică al AȘM.

În anii 1994-1995, se realiza deja diagnosticul pentru identificarea mutațiilor frecvente în cazul fenilcetonuriei (A. Gavriiliuc) și fibrozei chistice (S. Ghimbovscaia) [4,5,6]. O direcție importantă inițiată de echipă în anii următori (1995-1996) a fost studierea genei *SMN1*, ale cărei mutații duc la una din cele mai frecvente patologii neuromusculare – atrofia musculară spinală (boala Verding-Hoffman) [7]. Primul diagnostic al acestei boli a fost realizat cu suportul Laboratorului de Genetică Moleculară, condus de A. Poleacov (astăzi Centrul de Genetică Moleculară, RAMN), din Moscova, Federația Rusă.

În 1997, sub conducerea profesorului St. Groppa a fost elaborat și apoi aprobat primul program național ”Perfecționarea serviciului medico-genetic în Republica Moldova. Anii 1998-2005”, în care au fost prezentate strategiile de bază de regionalizare și optimizare a structurii serviciului medical-genetic, inclusiv cu scopul de aprofundare a cercetărilor.

Dezvoltarea geneticii moleculare în republică a fost posibilă și datorită suportului din partea membrilor administrației Institutului de Ocrotire a Sănătății Mamei și a Copilului, al vice-directorului pentru activitatea științifică profesor Petru Stratulat (1993-2015), directorului Centrului științific al patologiilor ereditare, profesor Dumitru Amoășii (1993-1996) și directorul Centrului medico-genetic, profesor Stanislav Groppa (1996-2003).

Ca rezultat, în 2009 a fost posibil de a organiza Laboratorul Științific de Genetică Moleculară Umană (șef laborator V. Sacară, cercetător principal St. Groppa), ca unitate independentă în cadrul Centrului Național de Sănătate Reproductivă și Genetică Medicală (director – profesor V. Moșin, 2003-2012). Actualmente, în cadrul Laboratorului activează cercetătorii științific superiori D. Bădiceanu și trei cercetători științifici stagiați – Ch. Boiciuc, V. Hlistun, Iu. Grossu.

Pe parcursul activității, membrii Laboratorului i-au sporit capacitățile prin accesarea proiectelor finanțate de la buget prin Academia de Științe din Moldova, dar și a granturilor internaționale precum MRDA, BMBF, DAAD, fapt ce a permis stagierea colaboratorilor Laboratorului în centrele de performanță din SUA (N. Șirocova) și Europa (V. Sacară, D. Bădiceanu) și participarea lor la diferite școli de vară, precum: ”CBM

Summer School 2010, Personalized Medicine – Nutrition and Health, University of Trieste, IRCCS Burlo Garofolo Hospital and CBM, (Trieste, Italy); ”International School on Molecular Genetics for Young Scientists ”Cell biology” (Zvenigorod, Institute of Molecular Genetics, Russian Academy of Sciences); TATAA biocenter (Göteborg, Suedia); „4th course in the next generation sequencing” (Bertinoro, Italia).

Activitatea didactică

Începând cu anul 2001, Laboratorul a servit drept bază științifică pentru pregătirea studenților medici ai Universității de Medicină și Farmacie ”Nicolae Testemițanu” și a studenților biologi ai Universității de Stat din Moldova. Ulterior, din 2009 a fost inițiată colaborarea cu Universitatea Academiei de Științe din Moldova pentru pregătirea studenților la specialitățile biologie și biologie moleculară și antrenarea lor în lucrul de laborator, fiind elaborat și implementat cursul de Genetică Umană în cadrul programelor de Masterat.

Pentru asigurarea cu cadre tinere și transferul cunoștințelor, Institutul Mamei și Copilului colaborează cu Universitatea Academiei de Științe din Moldova. Astăzi, UnAȘM este unica instituție educațională din republică ce pregătește specialiști în domeniul biologiei moleculare la nivel de licență și masterat. Modalitatea principală de colaborare constă în antrenarea studenților universității în activități de cercetare, prin aplicarea cunoștințelor lor în lucrul de laborator, studierea polimorfismelor genetice ale diverselor patologii, formarea deprinderilor de diagnostic medical etc.

Universitatea dezvoltă mai multe domenii de cercetare care pot avansa diagnosticul medical. Astfel, a fost elaborat și implementat cursul de bioinformatică pentru magistrați, iar cercetările cu aplicarea tehnicilor bioinformaticice cu aplicații medicale pentru diagnosticul diferitelor cardiopatii au fost inițiate în cadrul Laboratorului de Bioinformatică, în Centrul de Biologie Moleculară al UnAȘM [18]. Deprinderile practice formate la studenți sunt aplicate pentru: designul primerilor și stabilirea condițiilor tehnice de realizare a tehnicii PCR la determinarea polimorfismelor genetice, studiul comparativ al secvențelor nucleotidice și proteice, planificarea experiențelor ce țin de stabilirea diagnosticului patologiilor cercetate. Realizarea a astfel de studii asupra structurii genelor prin utilizarea instrumentelor bioinformaticice ne-a permis să elaborăm strategiile de identificare și validare a polimorfismelor mononucleotidice. Cunoștințele în domeniul bioinformaticii au devenit indispensabile utilizării echipamentului de performanță cu care este dotat Laboratorul actualmente. Totodată, utilizarea bazelor de date bioinformaticice asigură cercetătorii Laboratorului cu surse de literatură necesare fundamentării scopurilor și obiectivelor direcțiilor prioritare de cercetare trasate în laborator. Deși domeniul bioinformaticii are o aplicație practică foarte largă în științele

biomedicale, dezvoltarea lui mai necesită măsuri de sincronizare. Actualmente, cursul de Bioinformatică este introdus la Universitatea de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu" pentru studenții medici din anul șase. Medicinistii își vor dezvolta capacitățile de identificare și fundamentare a ipotezelor științifice în cercetarea medicală.

Pe parcursul celor 25 de ani de activitate la baza Laboratorului au fost îndeplinite și susținute cu succes mai mult de 35 teze de licență și master, 4 teze de doctor în științe medicale și biologie.[32,33,34,35]

Rezultatele științifico-practice principale

Din momentul implementării tehnicii PCR și până în prezent activitatea practică a Laboratorului s-a desfășurat în colaborare strânsă cu departamentul de genetică clinică. Eforturile comune ale acestor două componente ale geneticii medicale, celei academice (laboratorul de cercetări) și celei practice (departamentul clinic), reprezintă baza serviciului de diagnostic prenatal din republică, asigurând continuitatea cercetărilor și dezvoltarea acestui domeniu. Datorită activității prodigioase a grupului de specialiști moleculari, a fost inițiat diagnosticul prenatal pentru astfel de maladii precum distrofia Duchenne și atrofia musculară spinală, boala Chorcot-Marie (V. Sacară), hemofiliile A și B (L. Romanova, N. Șirocova), fenilcetonuria (A. Gavriluc, K. Boiciuc), fibroza chistică (S. Ghimbovscaia, A. Gavriluc, K. Boiciuc), maladia Wilson (V. Sacară, V. Hlistun). Astfel, pe parcursul celor 25 ani de activitate, au fost efectuate peste 130 de cazuri de diagnostic prenatal, pentru cele 6 maladii monogenice grave. În 30% de cazuri, diagnoza a fost confirmată, pe când în alte familii de risc înalt femeile au născut copii sănătoși. [8, 9,10,11].

Pentru crearea capacităților de stabilire a diagnosticului prenatal și postnatal al patologiilor menționate s-a realizat un lucru enorm de studiere a spectrului și frecvențelor mutațiilor fiecărei gene, de identificare a punctelor "fierbinți" cu rată mutagenică înaltă, drept diagnostic direct. Au fost studiați markerii polimorfi asociați cu genele de interes, pentru elaborarea diagnosticului indirect de depistare a cromozomilor ce poartă variantele mutante ale genelor în familii cu risc ridicat [9,15,14,19]. S-a realizat estimarea nivelului de heterozigoție al locilor polimorfi intragenici și intergenici, fapt ce a permis de a evalua capacitatea informativă a locilor dați și utilizarea lor pentru diagnosticul ADN în familiile cu risc înalt. Rezultatele obținute au fost comparate cu datele existente la nivel mondial pentru frecvența locilor polimorfi, fiind prezentate în mai multe publicații originale, recomandări metodice, dar și monografii [27, 28, 29, 30,31].

În perioada anilor 2006-2007, în cadrul Laboratorului a fost realizat proiectul "Hemofilia A și B: screening mutațional și biochimic" finanțat de MRDA (N. Șirocova). Succesul proiectului a reprezentat identificarea a trei mutații noi, nedescrise anterior în bazele

internaționale de date ale mutațiilor asociate cu hemofiliile A și B: două în gena FVIII la pacienți cu hemofilia A și o mutație în gena FIX la pacienți cu hemofilia B [9]. Determinarea secvenței genelor de interes a fost realizată în colaborare cu cercetătorii din Puget Sound Blood Center, Seattle, SUA. În baza rezultatelor obținute a fost elaborat algoritmul de diagnostic molecular, care permite relevarea a circa 85,7% mutații în gena FVIII și până la 100% - în gena FIX la bolnavii afectați de hemofilie [35].

Proiectul moldo-german în anul 2010 "Studierea funcțională a transporterului de cupru ATP7B în hepatocite și neuroni pentru terapia direcționată a maladiei Wilson" (conducător – dr. șt. med. V. Sacară) a permis implementarea tehnicii SSCP ca metodă de screening prin estimarea mobilității electroforetice anormale a diferitor exoni ai genei ATP7B. Astfel, determinarea prezenței zonelor „fierbinți” în gena ATP7B a permis confirmarea ulterioară a bolii Willson prin secvențierea directă a genei în colaborare cu "Klinische und Experimentelle Transplantationshepatologie", Universitätsklinikum Münster, Münster, Germany. Studiul molecular-genetic realizat în comun cu partenerii din Germania a permis identificarea a 14 mutații diferite, dintre care 3 mutații noi, detectate în premieră [11, 12, 13, 14]. În cadrul acestui proiect, participanții au fost antrenați în utilizarea diferitelor metode de lucru cu culturi și linii de celule. Cercetările asupra liniilor celulare prin metoda de determinare a citotoxicității MTT și identificarea ulterioară a celulelor viabile cu ajutorul FACS, au stabilit că toți mutații "intermediari" au manifestat rezistență diferită față de Cu, comparativ cu liniile celulare de control CHO, fapt ce sugerează că acești mutați expresează factori specifici ai celulelor gliale sau hepatice [17].

Din anul 2010, au fost pornite cercetări de determinare a variantelor alelice ale genelor candidate, implicate în predispoziția genetică a omului către cele mai frecvente boli cronice umane. Se studiază în continuare rolul factorilor cercetați prin analiza frecvenței polimorfismelor genelor *MTHFR*, *MTRR*, *MTR*, *FV*, *FII*, *PAI-1*, *GSTM*, *GSTT*, *GSTP*, *ACE*, *ApoB*, *ApoE* și ale sistemului *HLA* la cuplurile cu pierderi reproductive [16, 20, 22, 23,].

În cadrul proiectului pentru tineri cercetători "Asocierea mutațiilor frecvente în genele trombofilice cu pierderile de sarcină în populația Republicii Moldova"(2012-2013) (conducător – dr. șt. biol. N. Șirocova) s-a implementat metoda PCR-RFLP pentru depistarea mutațiilor trombofilice în gena β -Fibrinogen - 455G>A, GPIIIa L33P, FV Leiden, FV H1299R, Prothrombin G20210A, FXIII V34L.[21]

În cadrul proiectului pentru tineri cercetători "Lărgirea spectrului mutațional în gena fenilalaninhidroxilazei (PAH) la pacienții cu fenilcetonurie din Republica Moldova" (2014-2015) (conducător - dr. șt. biol. D. Bădiceanu, consultant – dr. șt. med. N. Ușurelu),

finanțat de către AȘM, a fost realizată cercetarea pentru lărgirea spectrului de mutații ale genei PAH, ce a permis elaborarea unei strategii de screening molecular al fenilketonuriei [19]. În urma inițierii unei colaborări cu „The Department of Metabolic Diseases” condus de Profesor Beat Tony din Elveția (KINDERSPITAL ZURICH – ELEONORENSTIFTUNG, Elveția), specializat în diagnosticul molecular al erorilor de metabolism, a fost posibilă secvențierea genei PAH la 40 de pacienți PKU din R. Moldova, cu genotipul nedefinitivat. Datele de la secvențierea genei PAH au permis ridicarea ratei de detecție a mutațiilor din gena PAH la 97%.

Rezultatele molecular-genetice obținute în urma studierii miodistrofiei Duchenne (MDD/B) au permis modelarea matematică utilizată pentru predicția severității evoluției patologiei. Au fost depistate 17 deleții noi la bolnavii MDD/B din populația RM absente în baza de date Leiden a mutațiilor patologiilor neuromusculare [www.dmd.nl]. Pentru prima dată s-a reușit evaluarea rolului polimorfismelor genice ale ciclurilor metioninic și ale acidului folic prin metoda regresiei logistice multinomiale, precum și stabilirea tendințelor specifice ce influențează viteza cu care progresează procesele miopatie [15, 32.]. De asemenea, au fost studiate tipurile și forța interacțiunii pattern-ului polimorfismelor genelor ciclului metioninic (*MTR*, *MTRR*), acidului folic (*MTHFR*) și ale genei disfuncției endoteliale (*eNOS*) în cazul MDD/B, ca rezultat a fost elucidat rolul lor drept componentă genetică modificatoare în caz de mutații în gena distrofinei la progresia procesului patologic și gradul diferit al procesului miopatic în funcție de vârstă – la 9 ani și 12 ani [24,25,36].

Din 2015, echipa de cercetare realizează proiectul MOLDGENEX-ERIC ”Stimularea dezvoltării tehnologiilor inovaționale în cercetarea Geneticii Umane și promovarea participării active în proiecte prin conectarea la Infrastructura Cercetării Europene” (conducător - dr. șt. med. V. Sacară). Este un proiect de coordonare care se va desfășura timp de douăsprezece luni și prevede obiectivul general – crearea Centrului Genetic Moldav de Excelență (MGEC) și favorizarea participării active a cercetătorilor moldoveni în apelurile și proiectele de cercetare ale UE prin aderarea la infrastructurile de cercetare europene (TREAT-NMD, Metab-L etc.). Proiectul MOLDGENEX-ERIC va valorifica colaborarea internațională în cadrul diferitor activități, avându-se în vedere o abordare pe două direcții: pe de o parte, inițiativele științifice specifice vor crește sensibilizarea cu privire la implementarea tehnologiilor în domeniul geneticii moleculare și vor spori cunoștințele despre funcțiile genomului pentru diferite boli ereditare; iar pe de altă parte, se vor întreprinde eforturi de îmbunătățire a nivelului de expertiză privind diagnosticul molecular în baza fondurilor UE (Orizont 2020) și diseminarea cunoștințelor atât la

nivel de MGEC cât și în rândurile cercetătorilor științifici moldoveni.

Actualmente, se derulează cercetări legate de diagnosticul patologiilor mitocondriale și al imunodeficienței primare.

Perspectivile laboratorului geneticii umane

Laboratorul de Genetică Moleculară Umană dispune în prezent de echipamentul de bază necesar pentru diagnosticul unor boli și cercetări molecular-genetice. Datorită suportului Ministerului Sănătății, în urma realizării grantului japonez de suport tehnic JICA, Laboratorul a primit în dotație un secvențiator de 8 canale Genetic Analyzer 3500Dx și un amplificator în timp real RealTime PCR 7500 (Applied Biosystems, SUA), ceea ce a permis de a extinde considerabil spectrul de metode și tehnici aplicate. Astfel, se planifică a utiliza:

1. tehnica de PCR cantitativ pentru identificarea mutațiilor și dezvoltarea metodelor de diagnostic prenatal neinvaziv;
2. metoda amplificării sondei dependente de ligare multiple (*Multiplex ligation-dependent probe amplification*, MLPA);
3. metoda identificării mutațiilor în genele de interes asociate cu diverse patologii;
4. metoda analizei fragmentelor multiple de ADN.

Metodele menționate vor permite lărgirea spectrului de diagnostic ADN pentru un număr mai mare de patologii. Astfel, succesele studiilor molecular-genetice ale Laboratorului în cercetarea fundamentală vor include datele noi obținute referitoare la specificul calitativ și cantitativ al mutațiilor și polimorfismului genelor, defectele responsabile pentru patologii ereditare frecvente, la predispoziția genetică pentru diverse manifestări clinice etc. Noile rezultate vor fi utilizate în elaborarea programelor de screening, în urma cărora va deveni posibil de a identifica purtătorii formelor nefavorabile ale genelor, respectiv de a estima riscurile asociate cu apariția patologiilor în cadrul populației țării.

Dezvoltarea ulterioară a Laboratorului se va conforma politicilor Europene de cercetare, dezvoltare și inovare, promovate prin Horizont 2020, efortul fiind depus pentru conectarea la centre de excelență internaționale, transferul de tehnici și metode de diagnostic. Totodată, Laboratorul va promova consolidarea capacităților de infrastructură și potențial uman în Republica Moldova, pentru dezvoltarea serviciilor noi de diagnostic molecular-genetic.

Bibliografie

1. Григорий Е., Асеев М., Баранов В., Амоаший Д., Шеголева Л., Анализ полиморфных сайтов методом полимеразной цепной реакции в семье 2-х больших гемофилией. Problemele actuale în obstetrică și pediatrie. Teze de raport de la Conferința jubiliară consacrată fondării COSMȘiC., 1992, Chișinău.

- 2. Sacară V., Amoashii D., Artemyeva L., Romanova L., Smirnova L.** Определение гетерозиготного носительства и пренатальная диагностика в семьях с миодистрофией с использованием анализа полиморфных сайтов рестрикции. I Conferință internațională pe planificarea familiei "Problemele actuale de planificare a familiei în țările Europei de Est", Octombrie 1994, Chișinău. p.55.
- 3. Amoashii D., Romanova L., Grigorii E., Aseev M., Baranov V.** Planificarea familiilor cu pericol genetic înalt la Hemofilia A. I Congres internațional pe planificarea familiei "Problemele actuale de planificare a familiei în țările Europei de Est", Octombrie 1994, Chișinău. p.68.
- 4. Gavriľuk A., Romanova L., Amoashii D.** Идентификация мутации deltaF508 у больных муковисцидозом в популяции Молдовы. Тезисы. Сборник НИИОЗМиР. 1995. Кишинев.
- 5. Gimbovskaia S., Kalinin V., Baranov V., Amoashii D., Ivascenco T., Gorbunov G., Romanova L.** Asociația genotipurilor cu diferite forme clinice de Fibroza Chistică în Moldova. Tezele de la Congresul medicilor pediatri, obstetricieni și ginecologi. Noiembrie, 1993, Chișinău.
- 6. Gavruľic A.** Most common mutation from phenylketonuria patients and possibility of prenatal diagnosis in population of Moldova. Buletin de Perinatologie. Materiale a II Conferinței Naționale de medicină perinatală cu participare internațională. Chișinău, 2001, N3, p.67-69
- 7. Sacară V., Șirocova N.** Studiarea locusurilor polimorfe D5S557, D5S435, care flanchează gena SMN (survival motor neuron) în familii cu atrofia muscular spinal Werdnig-Hoffmann. Buletin de Perinatologie, Chișinău, N. 2, 2003, p.16-21
- 8. Sacară V.** Degenerarea hepatolenticulară (tabloul clinic, structura genei și diagnostic molecular genetic). Buletin de Perinatologie, Chișinău, 2006, N4, p.34-37
- 9. Șirocova N.** et al. Factor VIII mutations in 42 Moldovan haemophilia A families, including 12 that are novel. Haemophilia, 2009, vol. 15, p. 942-951
- 10. Sacara, V.; Egorov, V.; Groppa, St.; Stratila, M.; Mosin, V.** Medico- genetic assistance in the Republic of Moldova. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții. 2010, 2(311), 84-89. ISSN 1857-064X.
- 11. Mocanu, N.; Sacară, V.; Groppa, St.** Particularitățile formelor clinice și posibilitățile diagnosticii bolii Wilson în Republica Moldova. Curierul Medical. 2011, 1(319), 63-66. ISSN 1875-0666.
- 12. Mocanu, N.; Groppa, St.; Șirocova, N.; Scvorțova, E.; Gavriľuc, A.; Burgoci, V.; Todorov, T.; Schmidt H.; Sacară, V.** Caracteristica clinică și moleculară a bolii Wilson în Republica Moldova. Buletin de Perinatologie. 2011, 1(49), 26-31. ISSN 1810-5289.
- 13. Mocanu, N., Groppa, St., Sacară, V.; Șirocova, N., Todorov, T., Zibert A., Schmidt H.** Particularitățile bolii Wilson în Republica Moldova. Buletin de Perinatologie. 2012, 1(53), p. 27-33, ISSN 1810-5289.
- 14. Mocanu, N.; Sacară, V.; Todorov, T.; Groppa, St.** Cercetarea legăturii hipoceruloplasminemiei cu mutațiile în gena ATP7B. Buletin de Perinatologie. Chișinău, 1(57), 2013, p. 32-37. ISSN 1810-5289
- 15. Sacară, V.** Genetic analysis of dystrophin gene in affected males and females carriers with Duchenne/Becker muscular dystrophy in Republic of Moldova between 1992 and 2012. Buletin de Perinatologie, 3(55), 2012, p. 29-36. ISSN 1810-5289.
- 16. Egorov, V.; Sacară, V.; Ușurelu N.; Moșin, B.** Комплекс HLA и патология репродукции. Curier Medical, 3(56), 2013, p. 51-56.
- 17. Sacară V., Zibert A., Schmidt H. H.-J.** The functional activity of CHO cell lines expressing different ATP7B mutations (the cytotoxicity of the certain concentrations of copper and Zinc). Buletin de Perinatologie, 1(57), 2013, p. 44-52.
- 18. Duca M.** Bioinformatica – un nou domeniu de studii în biologie pentru Republica Moldova. Akademos, Nr.3 (30), 2013, pp. 28-35
- 19. Boiciuc K., Ușurelu N., Sacară V.** Analiza molecular-genetică a genei PAH la pacienții cu PKU din Republica Moldova. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale, 1(42), 2014, p. 227-232. ISSN 1857-0011.
- 20. Boiciuc, K.; Badicean, D.; Scurtu, V.; Pîngau, E.; Ușurelu, N.; Sacară V.** Trombofilia ereditară ca una din cauzele problemelor reproductive la femei. Buletin de Perinatologie. Chișinău, 2015, nr. 1(65). p.61-68. ISSN 1810-5289.
- 21. Șirocova N., Scurtu V., Boiciuc K., Dulap D., Badicean D., Ușurelu N., Parii A., Munteanu A., Sacară V.** Asocierea mutațiilor frecvente în genele trombofilice cu pierderile de sarcină în populația Republicii Moldova. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei, Științe Medicale 1(42), 2014, p. 205-210. ISSN 1857-0011.
- 22. Dulap D., Șirocova N., Sacară V.** Polimorfismul genei enzimei de conversie a angiotensin transferazei (ACE I/D) la femei cu pierderi reproductive din Republica Moldova. Buletinul Academiei de Știință a Moldovei. Științe Medicale 1(42), 2014, p. 222-227.
- 23. Hlistun V., Șirocova N., Ușurelu N., Egorov V., Parii A., Muntean A., Racilă V., Sacară V.** Genele de faza a II-a (GSTM1, GSTT1, GSTP1) a detoxificării xenobioticelor la femei cu pierderi reproductive din Republica Moldova. Buletin de Perinatologie, 1(61), 2014, p. 47-51.
- 24. Sacară, V.; Spătaru, A.; Burgoci, V.; Groppa, S.; Duca, M., Moșin V.** Analiza efectului modificador al genei Nitric Oxide Syntase în procesele miopatie. Buletin de Perinatologie. 2010, 3(47), 215-219. ISSN 1810-5289.
- 25. Sacară V., Scurtu V., Duca M., Groppa S.** Analiza de asociere a genelor ciclurilor folat, metioninic și

genei sintazei NO-endoteliale la bolnavii de miocardioză Duchenne și la populația sănătoasă din Republica Moldova. *Buletinul Academiei de Știință a Moldovei. Științe Medicale* 1(42), 2014, p. 210-213. ISSN 1857-0011.

26. **Sacără V., Mocan E., Scurtu V., Duca M., Groppa S.** Evaluarea influenței genelor modificatoare a metabolismului asupra manifestărilor proceselor miopatie (pe exemplul Distrofiei Musculare Duchenne/Becker). *Buletinul Academiei de Știință a Moldovei. Științe Medicale*. 1(42), 2014, p. 199-205. ISSN 1857-0011.

27. **Groppa St., Zota E., Sacără V.** Distrofiile musculare progresive. Chișinău, Î.S.FEP "Tipografia Centrală", ISBN 9975-78-361-9 616,74-007.23, 2005, 111p.

28. **Ușurelu N., Țurea V., Ușurelu O., Gavriluc A., Sacara V.** Fenilcetonuria: consultul medico-genetic, dietoterapia, integrarea socială. Chișinău: Editura „Policolor”, ISBN 978-9975-9956-0-3, 2007, 80p.

29. **Șirocova N., Vicol M., Țurea V., Sacără V., Barbacaru N.** Hemofilia: aspecte clinico-diagnostice și principii de tratament (recomandări metodice). Chișinău. CNSRGM, 2008, 43p.

30. **Гладун Е., Мошин В., Гроппа Ст., Стрэтила М., Ревенку В., Гладун С., Зота П., Безродная Д., Чуботару Л., Халабуденко Е., Григорий Е., Сакарэ В.** Планирование семьи и репродуктивное здоровье. Руководство для акушеров-гинекологов и семейных врачей. Кишинев, 2002, 352с.

31. **Gladun E., Groppa St., Ștemberg M., Cotorcea V.** Investigațiile medico-genetice în obstetrică (îndrumar informativ metodic). Chișinău, 2000, 34p.

32. **Sacără V.** Analiza molecular-genetică și clinică a familiilor cu distrofie musculară progresivă forma Duchenne în populația Republicii Moldova. Autoreferat al tezei de doctor în științe medicale. Chișinău, 2000. 25 p.

33. **Gavriluc A.** Polimorfizmul secvenței ADN 12q24.1 înălțuite cu gena fenilalaninhidroxilazei în populația Republicii Moldova. Autoreferat al tezei de doctor în biologie. Chișinău, 2004. 25 p.

34. **Egorov V.** Particularitățile clinice și imunogenetice ale acceselor febrile. Autoreferatul tezei de doctor în științe medicale. Chișinău, 2003. 25 p.

35. **Широкова Н.** Исследование полиморфизма генов F8 и F9 у пациентов с гемофилией А и В в Республике Молдова. Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологии. Кишинев, 2010. 25 с.

36. **Levițchi A., Sacără V.** Identification of new modifier genes at DMD/BMD and patient lifespan. Abstracts book from European Human Genetics Conference 2013, June 8 - 11, 2013 Paris, France. *European Journal of Human Genetics*, vol. 21. Supp. 2, 2013, J08.08, p. 512. (https://www.eshg.org/fileadmin/www.eshg.org/conferences/2013/ESHG2013_AbstractsWebsite.pdf)

© Dorina Savoschin

Dorina Savoschin

PARTICULARITĂȚI FENOTIPICE ALE SINDROMULUI OBSTRUCTIV LA COPII

IMSP Institutul Mamei și Copilului (Director – dr. șt. med., conf. univ. S. Gladun)

SUMMARY

PHENOTYPIC PECULIARITIES OF BRONCHOOBSTRUCTIVE SYNDROME IN CHILDREN

Key-words: children, asthma, wheeze, phenotype.

Background. *Bronchial obstruction is one of the most frequent clinical manifestations in childhood. However, in children under 5 years of age is rather difficult to establish the etiology and treatment for this syndrome.*

Material and methods. *The study included 244 children with bronchial obstruction, including 150 children with acute respiratory infections, hospitalized to specialized units of the Institute for Maternal and Child Healthcare the Pulmonology Unit, and 75 patients with bronchial asthma. For data collection purpose a special questionnaire was elaborated. Statistical processing of the material was performed by applying statistical software SPSSv6.0.*

Results. *Results of the case-control study revealed different clinical phenotypes of bronchial obstruction in young children: patients with bronchial obstruction of infectious etiology most frequently reported mixed dyspnoea ($p < 0.0001$), pneumonia and bronchiolitis ($p < 0.0001$), fever ($p < 0.05$), sleepiness ($p < 0.05$), and psychomotor agitation ($p < 0.05$). Children with atopy and bronchial obstruction manifest mainly expiratory dyspnea ($p < 0.0001$) and nocturnal dry cough ($p < 0.0001$), without developing bronchiolitis.*

Conclusions. *The study results revealed two clinical phenotypes of bronchial obstruction in children under 5 years of age; this will make possible an individualized approach in treating children with wheezing.*