Școala doctorală în domeniul Științe medicale

Cu titlu de manuscris

C.Z.U.: 616.8-00-053.1(043.2)

TIHAI Olga

ESTIMAREA RISCULUI DEZVOLTĂRII ÎN ONTOGENEZĂ A MALFORMAȚIILOR CONGENITALE ALE SISTEMULUI NERVOS FOLAT-DEPENDENTE

322.01 – PEDIATRIE ȘI NEONATOLOGIE

Teză de doctor în științe medicale

Chișinău, 2026

Teza a fost elaborată în cadrul Departamentului *Pediatrie* al USMF „Nicolae Testemițanu", instituție membru al Consorțiului fondator al Școlii doctorale în domeniul Științe medicale

Conducător

Sprincean Mariana,
dr. hab. șt. med., conferențiar universitar

Conducător prin cotutelă

Hadjiu Svetlana,
dr. hab. șt. med., profesor universitar

Membrii comisiei de îndrumare:

Revenco Ninel,
dr. hab. șt. med., profesor universitar

Barbova Natalia,
dr. șt. med., conferențiar universitar

Litovcenco Anatol,
dr. hab. șt. biologice

Susținerea va avea loc la 25.03.2025,ora 14:00, în incinta USMF „Nicolae Testemițanu", bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, biroul 204, în ședința Comisiei de susținere publică a tezei de doctor, aprobată prin decizia Consiliului Științific al Consorțiului din 12.11.2025 (proces-verbal nr.74).

Componența Comisiei de susținere publică a tezei de doctor:

Bernic Jana,
dr. hab. șt. med., profesor universitar, **președinte**
Sprincean Mariana,
dr. hab. șt. med., conferențiar universitar, conducător de doctorat
Hadjiu Svetlana,
dr. hab. șt. med., profesor universitar, conducător prin cotutelă
Crivceanscaia Larisa,
dr. hab. șt. med., conferențiar universitar, referent
Barbova Natalia,
dr. șt. med., conferențiar universitar, referent
Eusebiu Vlad Gorduza,
dr. hab. șt. med., profesor universitar (Iași, România), referent
Palii Ina,
dr. hab. șt. med., profesor universitar, referent

Autor
Tihai Olga

© Tihai Olga, 2026

CUPRINS

LISTA TABELELOR....4
LISTA FIGURILOR....5
LISTA ABREVIERILOR....7
INTRODUCERE....9
1. ASPECTE ACTUALE ALE MALFORMAȚIILOR CONGENITALE ALE SISTEMULUI NERVOS LA COPII....15
1.1. Clasificarea, epidemiologia și monitorizarea globală a malformațiilor congenitale ale sistemului nervos (MCSN)....15
1.2. Mecanisme etiopatogenetice și factori de risc ai malformațiilor congenitale ale sistemului nervos....18
1.3. Evoluția diagnosticării malformațiilor congenitale ale sistemului nervos în perioadele preconcepțională și postconcepțională....22
1.4. Particularitățile de manifestare clinică și de diagnostic al principalelor forme de MCSN ..25
1.5. Măsuri populaționale și individuale în reducerea riscului de malformații congenitale ale sistemului nervos....35
2. MATERIAL ȘI METODE....40
2.1. Designul studiului și metodologia de investigare....40
2.2. Prelucrarea statistică a datelor....47
3. ASPECTE EPIDEMIOLOGICE, PERICONCEPȚIONALE ȘI CLINICE ALE MALFORMAȚIILOR CONGENITALE ALE SISTEMULUI NERVOS LA COPIII DIN REPUBLICA MOLDOVA....50
3.1. Distribuția malformațiilor congenitale ale sistemului nervos în Republica Moldova: tendințe naționale și comparații cu datele internaționale....50
3.2. Evaluarea asocierilor dintre factorii sociodemografici și periconcepționali și malformațiile congenitale ale sistemului nervos: studiu caz-control....59
3.3. Explorarea relațiilor nosologice și clinice în cadrul malformațiilor congenitale ale sistemului nervos: tipare de asociere și comorbidități neurologice asociate....66
4. ANALIZA POLIMORFISMELOR GENELOR CICLULUI FOLATULUI LA MAMELE COPIILOR CU MALFORMAȚII CONGENITALE ALE SISTEMULUI NERVOS....74
4.1. Distribuția și asocierea variantelor genei *MTHFR677* la mamele copiilor cu MCSN....74
4.2. Distribuția și asocierea variantelor genei *MTHFR1298* la mamele copiilor cu MCSN....79
4.3. Distribuția și asocierea variantelor genei *MTR2756* la mamele copiilor cu MCSN....83
4.4. Distribuția și asocierea variantelor genei *MTRR66* la mamele copiilor cu MCSN....87
4.5. Evaluarea distribuției polimorfismului genelor ciclului folatului în diferite forme de MCSN....91
DISCUȚII....104
CONCLUZII GENERALE....130
RECOMANDĂRI PRACTICE....132
BIBLIOGRAFIE....133
LISTA ANEXELOR....146
ADNOTARE....208
ANNOTATION....209
CV-UL AUTORULUI....210

LISTA TABELELOR

Tabelul 1.Aportul zilnic de acid folic conform recomandărilor Consiliului pentru Alimentație și Nutriție 37
Tabelul 2. Structura malformațiilor congenitale cerebrale în RM și în EUROCAT în anii 2018-2021 56
Tabelul 3. Distribuția numărului de copii existenți în familie în loturile studiate 62
Tabelul 4. Frecvența alelelor, modelele de moștenire și echilibrul Hardy Weinberg pentru gena *MTHFR677* la mamele copiilor cu MCSN versus mamele copiilor fără MCSN 76
Tabelul 5. Frecvența alelelor, modelele de moștenire și echilibrul Hardy Weinberg pentru gena *MTHFR677* la mamele copiilor cu MCSN folat-dependente versus mamele copiilor fără MCSN 78
Tabelul 6. Frecvența alelelor, modelele de moștenire și echilibrul Hardy-Weinberg pentru gena *MTHFR1298* la mamele copiilor cu MCSN versus mamele copiilor fără MCSN 80
Tabelul 7. Frecvența alelelor, modelele de moștenire și echilibrul Hardy-Weinberg pentru gena *MTHFR1298* la mamele copiilor cu MCSN folat-dependente versus mamele copiilor fără MCSN 82
Tabelul 8. Frecvența alelelor, modelele de moștenire și echilibrul Hardy-Weinberg pentru gena *MTR2756* la mamele copiilor cu MCSN versus mamele copiilor fără MCSN ... 84
Tabelul 9. Frecvența alelelor, modelele de moștenire și echilibrul Hardy-Weinberg pentru gena *MTR2756* la mamele copiilor cu MCSN folat-dependente versus mamele copiilor fără MCSN 86
Tabelul 10. Frecvența alelelor, modelele de moștenire și echilibrul Hardy-Weinberg pentru gena *MTRR66* la mamele copiilor cu MCSN versus mamele copiilor fără MCSN 88
Tabelul 11. Frecvența alelelor, modelele de moștenire și echilibrul Hardy-Weinberg pentru gena *MTRR66* la mamele copiilor cu MCSN folat-dependente versus mamele copiilor fără MCSN 90

LISTA FIGURILOR

Figura 1. Reprezentare schematică a originii embriologice a principalelor tipuri de defecte ale tubului neural. 19
Figura 2. USG fetală la 21 de săptămâni: diagnostic sugestiv de sindrom Dandy-Walker..... 26
Figura 3. TC cerebrală la copil de 2 ani: malformație Arnold-Chiari de tipul I..... 26
Figura 4. USG fetală la 12 săptămâni: diagnostic sugestiv de anencefalie. 27
Figura 5. USG fetală la 12 săptămâni: diagnostic sugestiv de spină bifidă..... 28
Figura 6. USG fetală la 12 săptămâni: diagnostic sugestiv de meningomielocel congenital..... 29
Figura 7. Aspect imagistic sugestiv pentru microcefalie congenitală. 30
Figura 8. IRM cerebrală la copil de 1 an: hidrocefalie congenitală triventriculară..... 31
Figura 9. IRM cerebrală la copil de 2 ani: agenezia corpului calos. 32
Figura 10. IRM cerebrală la copil de 1 an: craniostenoză congenitală coronară dreaptă completă. 33
Figura 11. IRM cerebrală la copil de 2 ani: atrofie cerebeloasă congenitală. 34
Figura 12. IRM cerebrală la copil de 3 ani: chist cerebral congenital..... 35
Figura 13. Designul studiului 42
Figura 14. Evoluția anuală a frecvenței MCSN (anii 2018-2023)..... 50
Figura 15. Structura procentuală a malformațiilor congenitale ale sistemului nervos central în perioada 2018-2023..... 51
Figura 16. Structura procentuală cumulativă a MCSN în perioada 2018-2023 52
Figura 17. Tendințele temporale ale incidenței MCSN în RM în perioada 2018-2023 54
Figura 18. Evoluția anuală a numărului de pacienți și a tipurilor de diagnostic MCSN în RM în perioada 2018-2023..... 55
Figura 19. Compararea frecvenței MCSN în RM și în registrul EUROCAT (în perioada 2018-2021) 56
Figura 20. Evoluția incidenței anencefaliei la 10.000 de nou-născuți în RM și în rețeaua EUROCAT (în perioada 2018-2021) 57
Figura 21. Evoluția incidenței hidrocefaliei la 10.000 de nou-născuți în RM și în rețeaua EUROCAT (în perioada 2018-2021) 58
Figura 22. Evoluția incidenței encefalocelului la 10.000 de nou-născuți în RM și în rețeaua EUROCAT (în perioada 2018-2021) 58
Figura 23. Evoluția incidenței microcefaliei la 10.000 de nou-născuți în RM și în rețeaua EUROCAT (în perioada 2018-2021) 59
Figura 24. Evoluția incidenței anomaliilor structurale cerebrale la 10.000 de nou-născuți în RM și în rețeaua EUROCAT (în perioada 2018-2021)..... 59

Figura 25. Distribuția copiilor din eșantioanele investigate în funcție de sex 60
Figura 26. Distribuția copiilor din eșantioanele investigate în funcție de locul de trai 61
Figura 27. Scorul APGAR la copiii din eșantioanele investigate 61
Figura 28. Starea socioeconomică în familie în subgrupurile investigate 63
Figura 29. Vârsta părinților copiilor în subgrupurile investigate 63
Figura 30. Administrarea acidului folic în subgrupurile investigate 66
Figura 31. Matricea corelațiilor Spearman dintre MCSN în cadrul lotului studiat 70
Figura 32. Tendințe de coasociere între formele de MCSN, evidențiate prin analiza PCA asupra corelațiilor Spearman 71
Figura 33. Matricea corelațiilor Spearman privind asocierea diferitelor MCSN și a patologiilor neurologice concomitente în eșantionul studiat 73
Figura 34. Distribuția variantelor de genotip ale *MTHFR677* la mamele copiilor incluși în studiu 75
Figura 35. Distribuția variantelor de genotip ale *MTHFR1298* la mamele copiilor incluși în studiu 79
Figura 36. Distribuția variantelor de genotip ale *MTR2756* la mamele copiilor incluși în studiu 83
Figura 37. Distribuția variantelor de genotip ale *MTRR66* la mamele copiilor incluși în studiu 87

LISTA ABREVIERILOR

A	adenozină
ADN	acidul dezoxiribonucleic
AFP	fetoproteina alfa
C	citozină
CDC	Centrul pentru Controlul și Prevenirea Bolilor (*Centers for Disease Control and Prevention*)
DS	deviație standard
DTN	defect al tubului neural
EUROCAT	registrul european de supraveghere a anomaliilor congenitale
FMCSN	malformații congenitale ale sistemului nervos folat-dependente
G	guanină
GBD	Povara Globală a Bolilor (*Global Burden of Disease*)
HWE	testul de echilibru Hardy-Weinberg (*Hardy-Weinberg Equilibrium*)
ICD-10	Clasificarea Internațională a Bolilor, revizuirea a zecea
IMC	indice de masă corporală
IMSP	instituție medico-sanitară publică
IRM	imagistică prin rezonanță magnetică
MC	malformații congenitale
MCSN	malformații congenitale ale sistemului nervos
MTHFR	metilentetrahidrofolat reductază
MTR	metionin-sintază
MTRR	metionin-sintază reductază
n.n.	nou-născuți
OMS	Organizația Mondială a Sănătății
OR	raportul șanselor (*odds ratio*)
PAF	fracțiune atribuibilă în populație (*Population Attributable Fraction*)
PAPP-A	proteina plasmatică asociată sarcinii
PC	patologii concomitente
PCA	analiza componentelor principale (*Principal Component Analysis)*
RM	Republica Moldova
RMN	rezonanță magnetică nucleară
RT-PCR	reacția de polimerizare în lanț cu transcripție inversă (*Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction*)
SN	sistem nervos

SNC	sistem nervos central
SNP	polimorfism uninucleotidic (*Single Nucleotide Polymorphism*)
T	timină
TC	tomografie computerizată
TORCH	complexul TORCH: toxoplasmoză, alte infecții, rubeolă, citomegalovirus și herpes simplex (*Toxoplasmosis, Other viruses, Rubella, Cytomegalovirus, Herpes simplex virus*)
USG	ultrasonografie
USPSTF	Grupul Operativ pentru Servicii Preventive din SUA (*United States Preventive Services Task Force*)
β-hCG	gonadotropina corionică umană beta

INTRODUCERE

Actualitatea și importanța problemei cercetate. Malformațiile congenitale ale sistemului nervos (MCSN) sunt consecința unor defecte ale tubului neural (DTN), survenite ca urmare a unei închideri incomplete sau anormale a acestuia în timpul embriogenezei [1,2]. Între 2011 și 2022, MCSN au constituit aproximativ 10-11% din totalul anomaliilor congenitale în Republica Moldova, reprezentând constant una dintre principalele cauze ale mortalității infantile [3,4]. În Republica Moldova, cele mai frecvente malformații ale sistemului nervos sunt anomaliile structurale cerebrale (44,27%), urmate de hidrocefalie (29,69%), anencefalie (16,67%), encefalocel (5,21%) și microcefalie (4,17%), cu frecvențe variind între 0,39 și 5,27 cazuri la 10.000 de nou-născuți [3,5]. Potrivit OMS, prevalența DTN variază semnificativ la nivel global (6,9-21,9/10.000 de nou-născuți), fiind adesea subraportată în multe țări [6]. În țările europene, conform EUROCAT (2024), incidența anuală se încadrează între 10,07 și 10,83/10.000 de nou-născuți [7].

Etiologia malformațiilor congenitale ale sistemului nervos este complexă și multifactorială [8], incluzând factori genetici, de mediu și autoimuni [2,3]. Identificarea timpurie a acestor determinanți rămâne o prioritate în contextul frecvenței crescute și al prognosticului adesea nefavorabil asociat acestor afecțiuni [9]. Dintre factorii modificabili, deficitul de acid folic, în perioada periconcepțională, este unul dintre deficitele cel mai bine documentate, cu rol etiologic major în apariția defectelor de tub neural [10]. Studiile realizate de Finell R. et al. (2008) au evidențiat impactul sinergic al acidului folic și al vitaminei B12 asupra dezvoltării tubului neural [11], iar datele din studiul randomizat publicat de Atta C. et al. (2016) au confirmat eficiența fortificării alimentelor în reducerea prevalenței DTN [12]. Pe această bază s-a conturat conceptul de „folate-preventable neural tube defects (FP-NTDs)” – o subgrupă de malformații a căror incidență poate fi redusă semnificativ prin intervenții nutriționale, în special *spina bifidă*, *anencefalia* și *encefalocelul* [13]. Deși nu reprezintă o clasificare clinică propriu-zisă, termenul are valoare în epidemiologie și în sănătatea publică, reflectând rezultatele a peste trei decenii de cercetări. Astfel, în rapoartele anuale coordonate de Kancherla et al. (2020) [14], țările cu programe de fortificare alimentară obligatorie au înregistrat scăderi notabile ale prevalenței DTN. În acest context, și în Republica Moldova a fost implementat un program național de fortificare alimentară (HG nr. 171 din 19.03.2012) [15]. Cu toate acestea, persistența unor cazuri de malformații congenitale ale sistemului nervos folat-dependente (FMCSN), chiar și în prezența acestor măsuri de sănătate publică, sugerează că fortificarea, deși eficientă, nu este unica soluție preventivă. Astfel, se conturează necesitatea unei abordări etiologice extinse, care să depășească nivelul intervențiilor nutriționale și să analizeze alți factori de risc implicați în apariția MCSN, precum predispoziția genetică, statusul metabolic matern, expunerile toxice, infecțiile prenatale, dezechilibrele imune sau stilul de viață. În literatura

de specialitate, acești cofactori sunt studiați diferențiat la nivel populațional, în vederea înțelegerii variabilității expresiei și a frecvenței acestora în funcție de contextul genetic, epigenetic și socioeconomic al fiecărei regiuni [16].

În acest sens, în Republica Moldova nu există încă date concludente privind distribuția și expresia factorilor ce determină creșterea riscului de dezvoltare în ontogeneză a MCSN, ceea ce limitează posibilitățile de perfecționare și individualizare a strategiilor de prevenție în funcție de specificul populațional.

Consolidarea cadrului teoretico-metodologic al investigației privind contribuția *background*-ului genetic matern și a interacțiunilor gene–mediu în etiopatogenia MCSN impune integrarea datelor provenite din meta-analize și revizuiri sistematice. Raționamentul de investigare a *background*-ului genetic la părinții copiilor este reflectat în multiple studii care subliniază importanța evaluării determinanților genetici parentali în aprecierea susceptibilității pentru aceste anomalii congenitale [17,18]. În acest context, sinteza critică a dovezilor epidemiologice este esențială pentru interpretarea rolului polimorfismelor materne implicate în metabolismul folatului (*MTHFR C677T, MTHFR A1298C, MTR A2756G și MTRR A66G*) considerate potențiali factori de susceptibilitate, a căror expresie patogenică este modulată de interacțiunea cu factori de mediu.

În contextul lipsei unor date sistematizate privind FMCSN în Republica Moldova, devine necesară investigarea unor direcții etiologice relevante pentru această categorie de malformații. Printre acestea, un loc central îl ocupă analiza polimorfismelor genelor implicate în metabolismul folatului, în special varianta *MTHFR 677C>T*, a cărei frecvență crescută, în unele populații, a fost asociată cu un risc mai mare de DTN [4,19–24]. Pe lângă componentele genetice, literatura de specialitate subliniază importanța documentării altor factori posibili [25], precum expunerile materne la agenți toxici [19–21] sau folosirea medicamentelor cu acțiune antifolat în timpul sarcinii [26,27], pentru care există date privind asocierea cu anomalii ale dezvoltării sistemului nervos. De asemenea, recurența familială a DTN [28], cu riscuri crescute în cazurile cu antecedente similare, este considerată un aspect important în evaluarea vulnerabilității populaționale [29, 30].

În contextul evaluării impactului malformațiilor congenitale ale sistemului nervos asupra sănătății publice, trebuie subliniată și povara patologiilor concomitente asociate la copiii cu astfel de anomalii. Printre comorbiditățile raportate cel mai frecvent se numără accidentul vascular cerebral și diverse afecțiuni genetice [31,32]. Abordarea complexă a acestor combinații de patologii presupune un consum substanțial de resurse ale sistemului de sănătate publică și generează dificultăți majore în gestionarea adecvată a cazurilor clinice.

Având în vedere aceste premise, o descriere detaliată a acestor factori, în rândul populației din Republica Moldova, este esențială pentru consolidarea bazei științifice necesare elaborării unor măsuri preventive mai bine adaptate realităților locale.

În baza tendințelor observate în literatura de specialitate, am formulat **ipoteza** acestui studiu: există o asociere semnificativă între anumiți factori de risc pre- și postconcepționali, inclusiv de mediu, precum și polimorfismele genelor ciclului folatului (*MTHFR677*, *MTHFR1298*, *MTR2756*, *MTRR66*), și apariția malformațiilor congenitale ale sistemului nervos, cu particularități marcate în subgrupa de forme prevenibile prin suplimentare cu folat (FMCSN).

Având în vedere premisele menționate, prezentul studiu are drept **scop** evaluarea particularităților epidemiologice, etiologice și clinice ale malformațiilor congenitale ale sistemului nervos la populația pediatrică din Republica Moldova, în special ale formelor prevenibile prin suplimentare cu folat, pentru determinarea potențialilor factori de risc și personalizarea măsurilor de profilaxie în apariția unor astfel de patologii în familiile expuse.

Pentru realizarea scopului, s-au stabilit următoarele **obiective ale studiului:**

1. Descrierea distribuției și a structurii malformațiilor congenitale ale sistemului nervos la copiii din Republica Moldova, pe baza datelor din Registrul Național al Malformațiilor Congenitale pentru perioada 2018-2023, cu compararea frecvenței în populație față de rețeaua europeană EUROCAT (perioada 2018-2021).
2. Evaluarea asocierii dintre factorii de risc pre- și postconcepționali, materni, paterni și de mediu și prezența malformațiilor congenitale ale sistemului nervos, cu evidențierea particularităților formelor susceptibile de prevenție prin suplimentare cu folat.
3. Analiza variantelor de asociere între diferite forme ale malformațiilor congenitale ale sistemului nervos, inclusiv cu patologiile neurologice concomitente.
4. Evaluarea frecvenței polimorfismelor uninucleotidice materne ale genelor implicate în metabolismul folatului (*MTHFR677*, *MTHFR1298*, *MTR2756*, *MTRR66*) și a asocierii acestora cu prezența și tipologia malformațiilor congenitale ale sistemului nervos, în special a formelor folat-dependente.

Metodologia generală a cercetării. Studiul s-a fundamentat pe un design integrat cu componentă retrospectiv-descriptivă și analitic-observațională de tip caz-control, fiind ghidat de concepte validate științific în literatura internațională privind etiologia malformațiilor congenitale ale sistemului nervos (MCSN). Abordarea științifică a fost structurată conceptual astfel:

- **Conceptul variabilității etnogeografice a determinantelor malformațiilor congenitale,** care subliniază necesitatea investigării distribuției și expresiei factorilor de risc (inclusiv genetici) în contextul particularităților regionale, etnice și socioculturale ale populației. Acest principiu justifică abordarea contextualizată a etiologiei MCSN în Republica Moldova și imposibilitatea extrapolării directe a datelor din alte regiuni;
- **Cadrul epidemiologic descriptiv,** bazat pe analiza seriilor temporale privind frecvența și structura MCSN în Republica Moldova, în perioada 2018–2023, în comparație cu datele

EUROCAT. A fost aplicată modelarea incidenței prin regresie Poisson pentru analiza evoluției temporale a frecvenței MCSN și FMCSN, pentru cuantificarea modificărilor anuale ale ratei acestor patologii, luând în considerare distribuția discretă și raritatea relativă a cazurilor;

- **Modelul etiologic multifactorial al MCSN,** fundamentat pe **principiul de selectare și sistematizare a predictorilor relevanți** (factori de risc materni, paterni și prenatali/intrauterini), conform dovezilor sintetizate în meta-analize și revizuiri sistematice de nivel înalt, ulterior investigați prin interviuri standardizate și analiză documentară a istoricului medical în lotul studiat;
- **Conceptul formelor folat-prevenibile de MCSN** (FMCSN), derivat din termenul internațional „folate-preventable neural tube defects", a fost utilizat în evaluarea particularităților acestui subgrup distinct, întru identificarea direcțiilor potențiale de optimizare a politicilor de sănătate publică de control al acestor anomalii;
- **Evaluarea *background*-ului genetic maternal și interacțiune gene–mediu în cadrul riscului de apariție a MCSN.** Spre deosebire de majoritatea studiilor axate pe genotipul descendenților, investigația actuală a evaluat distribuția variantelor alelice și genotipice ale genelor implicate în metabolismul folatului (*MTHFR677, MTHFR1298, MTR2756, MTRR66*) la mamele copiilor cu MCSN și ale celor fără MCSN, după abordarea propusă de Saxena et al. (2018) ; Chun-Quan et al. (2019)[17,33,34];
- **Conceptul de coexpresie și *clustering* nosologic** (în baza analizei corelaționale și reducerii dimensionalității prin PCA - *Principal Component Analysis*) a fost utilizat pentru identificarea unor potențiale tipare de coasociere a diferitelor MCSN, precum și cu patologiile neurologice concomitente.

Studiul a primit un aviz favorabil (nr. 83) din partea Comitetului de Etică a Cercetării al Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu", în cadrul ședinței din data de 24 ianuarie 2022.

Limitările studiului. Studiul de față prezintă anumite limitări, explicabile prin particularitățile contextului populațional și metodologic din Republica Moldova. Dimensiunea relativ redusă a eșantionului, determinată de incidența scăzută a malformațiilor congenitale ale sistemului nervos, a limitat posibilitatea aplicării unor modele statistice complexe și a analizei detaliate a interacțiunilor dintre factorii genetici și cei de mediu. Designul retrospectiv utilizat a implicat vulnerabilități metodologice, precum *bias*-ul de memorie și potențialele erori de raportare în privința expunerilor periconcepționale. Evaluarea genetică a fost centrată exclusiv pe profilul matern, fără includerea genotipurilor fetale, ceea ce a restricționat interpretarea mecanismelor implicate. De asemenea, comparabilitatea internațională a rezultatelor este influențată de eterogenitatea metodologică și genetică a studiilor din literatura de specialitate. Aceste aspecte evidențiază necesitatea unor cercetări ulterioare, desfășurate pe eșantioane extinse, prin designuri

prospective și abordări multicentrice, care să permită aprofundarea relațiilor dintre factorii genetici, de mediu și contextul socioeconomic specific.

Noutatea științifică. Pentru prima dată în Republica Moldova a fost realizată o investigație cu design dual asupra malformațiilor congenitale ale sistemului nervos (MCSN), combinând analiza retrospectivă a datelor populaționale cu un studiu caz-control extins privind expresia factorilor de risc. Studiul a evidențiat o tendință semnificativă statistic de scădere a incidenței MCSN și a formelor folat-prevenibile (FMCSN) în perioada 2018-2023, oferind primele dovezi naționale privind dinamica temporală a acestora. În comparație cu datele EUROCAT, cercetarea a documentat un profil diferențiat al distribuției subtipurilor clinice, cu o pondere mai mare a anomaliilor structurale cerebrale și a hidrocefaliei în Republica Moldova. Totodată, s-a constatat o legătură pronunțată între lipsa suplimentării periconcepționale cu acid folic și apariția FMCSN (93% din cazuri). De asemenea, a fost determinată o ierarhie a factorilor de risc materni, paterni și prenatali, precum și un grad de asociere a acestora cu MCSN în populația studiată, fiind identificați factori cu impact potențial major: agenți infecțioși (complexul TORCH, citomegalovirus), vicii comportamentale (tabagism, consum de alcool sau droguri), statusul de sănătate parental (diabet, hipertensiune arterială, supraponderalitate), utilizarea medicației și expunerea la noxe în perioada intrauterină. Cercetarea a evidențiat particularități relevante privind expresia clinică a MCSN, tendințe de asociere între diferite forme (clustere), precum și corelații semnificative între subtipurile clinice și patologiile neurologice asociate, consolidând astfel perspectiva unei abordări integrative și diferențiate a acestor entități patologice. Pentru prima dată în context regional, a fost demonstrată existența diferențelor semnificative în distribuția variantelor genotipice ale genelor *MTHFR677*, *MTHFR1298*, *MTR2756* și *MTRR66* între mamele copiilor cu MCSN și cele din lotul de control, cu asocieri specifice între anumite genotipuri și riscul de FMCSN (OR între 2,18 și 6,78).

Aprobarea rezultatelor a avut loc în conformitate cu etapele fundamentale ale studiului. Principalele rezultate au fost prezentate, discutate și aprobate la ședința Departamentului *Pediatrie* al IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, nr. 7 din 05.03.2025, și la ședința Seminarului Științific de Profil, specialitatea 322.01 - Pediatrie și neonatologie, nr. 1 din 04.07.2025, precum și în cadrul conferințelor științifice naționale și internaționale.

Rezultatele cercetării au fost comunicate în cadrul a peste 20 de manifestări științifice naționale și internaționale, printre care se numără: congrese europene de neurologie, precum 4th EAN Congress (2018, Lisabona), 9th EAN Congress (2022, Budapesta) și 20th World Stroke Congress (2022, Singapore); evenimente internaționale pediatric-neurologice din România: Zilele Pediatriei Ieșene (2021), Congresele SNPCAR și Conferințele Naționale de Neurologie-Psihiatrie a copilului și adolescentului (2018-2024); școli și conferințe cu participare internațională: Școala medicală

pediatrică (2018, Iași), MedEspera (2018, Chișinău), Conferința „Actualități în practica pediatrică” (2022, Chișinău), Congresul Internațional al Societății de Pediatrie din RM (2024, Chișinău); foruri naționale de excelență în cercetare: Conferința „Cercetarea în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță” (2021, 2023, Chișinău) și Simpozionul „Registrul maladiilor reumatice la copii” (2023, Chișinău).

Publicații la tema tezei. Rezultatele științifice la tema tezei au fost expuse în 61 de publicații, dintre care 1 articol în revistă internațională indexată SCOPUS, 2 articole în reviste din străinătate recenzate, 4 articol în lucrările conferințelor științifice naționale cu participare internațională, 11 teze în lucrările conferințelor științifice (6 internaționale; 5 naționale); activitate inovațională - 1 brevet de invenție, 1 certificat de drept de autor, 5 certificate de inovator AGEPI, 5 certificate de inovator instituționale, 10 acte de implementare instituționale, 1 medalie de aur la un forum internațional de inventică, desfășurat în străinătate; participări active la forumuri științifice: 11 comunicări orale la conferințe științifice (internaționale - 8; naționale cu participare internațională - 2; naționale -1), 9 postere la conferințe științifice (internaționale - 6; naționale - 3).

Volumul și structura tezei. Teza este scrisă în limba română cu titlu de manuscris. Este expusă pe 211 de pagini și conține: introducere, 4 capitole (revista literaturii, materiale și metode de cercetare, rezultate obținute - în două capitole, discuții), concluzii generale și recomandări practice. Bibliografia include 228 de titluri. Lucrarea este ilustrată cu 11 tabele, 37 de figuri, 1 formulă și 18 anexe.

Cuvinte-cheie: sistem nervos central, malformații ale sistemului nervos, defecte ale tubului neural, anencefalie, spină bifidă, sugar, deficit de acid folic, factori sociodemografici, factori de risc, polimorfism genetic.

1. ASPECTE ACTUALE ALE MALFORMAȚIILOR CONGENITALE ALE SISTEMULUI NERVOS LA COPII

1.1. Clasificarea, epidemiologia și monitorizarea globală a malformațiilor congenitale ale sistemului nervos (MCSN)

Malformațiile congenitale ale sistemului nervos reprezintă un grup eterogen de afecțiuni, care include anomalii de dezvoltare izolate, sistemice și multiple, cu etiologie diversă (genetică, de mediu și multifactorială) [35,36]. MCSN constituie una dintre cauzele frecvente de mortalitate perinatală în raport cu alte malformații [37,38].

Actualitatea studierii MCSN este bazată pe implicațiile clinice ale acestora, în special prin contribuția substanțială la mortalitatea perinatală și infantilă. Incidența globală a MCSN este estimată la 2% (echivalentul a 214. 000-322. 000 de sarcini afectate anual) [39]. Deși prevalența acestor malformații este redusă, ele reprezintă o cauză majoră de deces atât imediat, cum ar fi nașterea unui copil mort sau cazuri cu anomalii incompatibile cu viața (anencefalie, craniorahischizis sau iniencefalie), cât și în primele luni de viață din cauza complicațiilor asociate MCSN. În țările slab dezvoltate (de ex., datele din rețeaua CHAMPS privind Africa Subsahariană și Asia de Sud-Est), ponderea deceselor la copiii până la 5 ani din cauza MCSN este estimată la 2% din numărul total de decese, în Etiopia fiind cea mai înaltă (7,5%) [39]. În țările europene incluse în EUROCAT, se estimează o mortalitate perinatală atribuibilă anomaliilor congenitale de 1,27 la 1000 de nașteri (IC 95%, 1,23-1,31), dintre care MCSN ocupă poziția secundă după anomaliile congenitale cardiace [40].

În literatura de specialitate, definirea malformațiilor congenitale ale sistemului nervos variază în funcție de accentul pus pe criteriile morfologice, funcționale sau etiologice. În abordarea clasică (strict morfologică), MCSN reprezintă orice anomalie morfologică a SNC care apare în perioada embrionară sau fetală, indiferent de mecanismul de apariție [41]. Această perspectivă este frecvent utilizată în contextul clasificărilor anatomopatologice și al registrelor de supraveghere (de ex., EUROCAT, GBD).

O altă abordare este cea a contrapunerii aspectelor structurale și funcționale. Astfel, definiția morfofuncțională a MCSN include anomaliile structurale sau funcționale ale creierului și ale măduvei spinării, care apar în timpul dezvoltării fetale intrauterine [42]. Alți autori aduc în discuție distincția dintre cauzele intrinseci (dezvoltare aberantă) și cele extrinseci (evenimente disruptive) în definirea MCSN; astfel, Barañano et al. (2022) menționează că aceste patologii sunt anomalii congenitale ce rezultă fie din cauze genetice/de dezvoltare, fie din cauze dobândite/disruptive, numite „evenimente postformative” (de ex., hemoragii, ischemii, infecții etc.) [43].

La nivel mondial, aceste anomalii sunt urmărite prin intermediul registrelor de monitorizare

a malformațiilor congenitale, cum ar fi *Global Burden of Disease* (GBD). Această bază de date reprezintă un lanț de cercetare din 204 țări și teritorii, care vizează cel mai amplu și mai detaliat efort de monitorizare a incidenței bolilor în regiunile de studiu de-a lungul timpului, cu scopul de a fortifica sistemele de sănătate. Datele obținute dezvăluie perspectiva națională și subnațională referitoare la unii indicatori, precum fertilitatea, speranța de viață și cauzele de deces, în mai multe zone multinaționale, reflectând schimbările la nivel regional, național și local [44].

În cadrul registrului GBD au fost elaborate hărțile ratei de mortalitate prin defect de tub neural (DTN) la copiii cu vârsta <5 ani la nivel mondial. Conform distribuției geografice a GBD, cele mai ridicate rate ale mortalității se înregistrează în țările din Orientul Mijlociu (de ex., în Iran) și în unele părți din Asia și America de Sud. În Africa, rata este moderată, dar acest lucru se poate datora lipsei unei contabilizări coerente a acestor anomalii. În Europa și America de Nord, ratele mortalității sunt relativ scăzute, reflectând prezența unor sisteme de sănătate bine dezvoltate și a unor programe obligatorii de suplimentare cu acid folic. În țările cu rate ridicate ale mortalității există un acces limitat la serviciile de sănătate și lipsa programelor de profilaxie cu acid folic [45].

La nivel internațional, monitorizarea malformațiilor congenitale este prezentată prin intermediul sistemului internațional EUROCAT, care cuprinde 38 de registre ale țărilor europene [46]. EUROCAT este o rețea europeană de registre, bazate pe populație, pentru supravegherea epidemiologică a anomaliilor congenitale. Rețeaua a fost fondată în anul 1979 și funcționează până în prezent. Din echipa EUROCAT fac parte 36 de membri titulari și 6 membri asociați din 21 de țări europene, care supraveghează aproape 1,5 milioane de nașteri pe an [47]. Registrul EUROCAT dispune de informații epidemiologice relevante cu privire la anomaliile congenitale din Europa și funcționează ca un centru de informare și resurse pentru specialiștii din domeniul medical, oferind date despre factorii de risc pentru anomalii congenitale [47].

Principalele aspecte abordate în monitorizarea malformațiilor congenitale (MC) în țara noastră, la etapa actuală, sunt: determinarea frecvenței MC raportate la populația Republicii Moldova, studierea dinamicii și a etiologiei acestora [48]. Începând cu anul 2009, RM implementează acțiuni de includere a Registrului Național al Malformațiilor Congenitale al Republicii Moldova în EUROCAT. Potrivit datelor EUROCAT pentru perioada 2018-2021, malformațiile sistemului nervos constituie 5,8% sau 1,17 cazuri la 1000 de nou-născuți. Structura nosologică a malformațiilor cerebrale este dominată de hidrocefalia congenitală (38,51%) cu o frecvență de 2,53 cazuri la 10.000 de nou-născuți; anomalii structurale cerebrale au apărut în 26,18% din cazurile de malformații cerebrale, având o frecvență de 1,72 cazuri la 10.000 de nou-născuți; frecvența microcefaliei congenitale (24,66%) a fost înregistrată în proporție de 1,62 cazuri la 10.000 de nou-născuți; encefalocelul congenital (5,48%) prezintă o frecvență de 0,36 cazuri la 10.000 de nou-născuți. Anencefalia congenitală nu a fost întâlnită atât de des ca alte anomalii

cerebrale (5,18%), având o frecvență de 0,34 cazuri la 10.000 de nou-născuți [40].

Anomaliile congenitale ale sistemului nervos reprezintă o categorie importantă de afecțiuni neurologice, cu implicații semnificative asupra dezvoltării și funcționării organismului uman. Clasificarea malformațiilor sistemului nervos constituie un reper fundamental în neurologia pediatrică și neurochirurgia modernă, oferind un cadru conceptual necesar pentru înțelegerea complexității acestor anomalii congenitale. Utilizarea criteriilor morfologice, precum tulburările de migrație neuronală, anomaliile structurale ale creierului sau disfuncțiile sistemului ventricular, permite efectuarea unei analize detaliate a modificărilor anatomice apărute în diferite etape ale dezvoltării embriologice a SNC.

La nivel global, clasificarea malformațiilor sistemului nervos se realizează pe baza diferitelor criterii, incluzând morfologia, etiologia, manifestările clinice și gradul de severitate al acestora. Actualmente, în RM, pentru formele nosologice ale anomaliilor congenitale ale sistemului nervos se utilizează *Clasificarea Internațională a Bolilor*, revizuirea a 10-a (ICD-10), secțiunea „Malformații congenitale ale sistemului nervos” (Q00-Q07)[49]. Fiecare dintre aceste categorii cuprinde un spectru larg de prezentări clinice și implicații patologice. Dezvoltarea tehnologică continuă a adus îmbunătățiri semnificative în explorarea MCSM (RMN, TC multiplanară, ecografia transfontanelară), contribuind semnificativ la rafinarea criteriilor de clasificare și permițând nu doar identificarea timpurie a leziunilor, ci și înțelegerea mai profundă a arhitecturii cerebrale afectate [50].

Pe parcursul anilor, eforturi semnificative au fost îndreptate spre dezvoltarea unui sistem standardizat de clasificare a anomaliilor congenitale ale sistemului nervos [51]. Scopul lor a fost de a îmbunătăți monitorizarea și de a asigura o mai bună studiere a acestor afecțiuni, facilitând crearea unor suporturi clinice pentru specialiștii din domeniu și elaborarea unei politici de sănătate publică coerente [52–54].

În majoritatea cazurilor, schemele de clasificare se axează pe descrierea detaliată a particularităților structurale și anatomice ale acestor malformații [55]. Din punct de vedere morfologic, aceste anomalii pot fi încadrate în mai multe subcategorii, în funcție de natura și momentul apariției lor în cursul dezvoltării sistemului nervos.

În 1996, Barkovici et al. au propus prima clasificare a anomaliilor congenitale ale sistemului nervos pe baza investigațiilor neuroimagistice ale proceselor embriogenezei. Mai târziu, în 2013, a fost publicată versiunea finală a acestei clasificări, bazată pe conceptul că anomaliile congenitale ale sistemului nervos sunt rezultatul întreruperii a trei etape majore ale dezvoltării corticale: proliferarea și apoptoza celulelor și migrația celulară [56].

• *În funcție de morfologie*: tulburări ale migrației neuronale, în care aceste anomalii implică o migrație deficitară a neuronilor în timpul dezvoltării SNC (de ex., lisencefalia și hidrocefalia);

anomalii cerebrale (de ex., agenezia sau hipoplazia); anomalii ventriculare cerebrale, care includ anomalii ale ventriculelor cerebrale și ale circulației lichidului cefalorahidian (chisturi intraventriculare sau stenoza canalului cerebral).

• *În funcție de manifestările clinice*: malformații cerebrale fără simptome clinice, în care unele anomalii cerebrale pot rămâne asimptomatice sau pot deveni evidente doar în timpul examinărilor instrumentale (agenezie septală, chisturi cerebrale) [55]; malformații cerebrale cu simptome clinice, acest grup incluzând anomaliile în care se manifestă diverse simptome clinice, cum ar fi tulburările motorii, retardul mintal, convulsiile și altele (hidrocefalie, encefalocel) [57].

Potrivit clasificării realizate de Zugazaga et al., bazate pe tabloul imagistic prenatal al defectului de tub neural la făt, anomaliile sistemului nervos sunt împărțite în trei grupe principale, în funcție de etapa afectată inițial, luând în considerare faptul că aceste modificări, în primele faze de dezvoltare, atenuiază adesea apariția etapelor ulterioare de dezvoltare a acestor anomalii. Malformațiile sistemului nervos asociate cu un prognostic sever sunt spina bifidă, holoprosencefalia, herniile craniocerebrale. Aceste anomalii nu duc la moarte fetală, dar determină unele dizabilități severe, datorate unor tulburări neurologice grave [56].

1.2. Mecanisme etiopatogenetice și factori de risc ai malformațiilor congenitale ale sistemului nervos

Defectele de tub neural, în majoritatea cazurilor, sunt eterogene atât în ceea ce privește cauzele, cât și în ceea ce privește manifestările clinice [58]. Dezvoltarea sistemului nervos central în timpul embriogenezei este un proces complex, ce implică o succesiune bine coordonată de evenimente celulare și moleculare. Formarea și închiderea tubului neural reprezintă un moment critic al acestui proces, iar eșecurile în închiderea capătului anterior pot duce la malformații cerebrale severe, precum anencefalia sau encefalocelul [59,60].

Pe lângă aceste defecte timpurii, pot apărea și anomalii asociate cu perturbări ale altor etape de dezvoltare, cum ar fi proliferarea, migrarea sau diferențierea neuronală. Aceste faze sunt susceptibile la factorii genetici și de mediu și sunt sistematizate în etape distincte ale neurodezvoltării.

Conform datelor raportate de Greene N. et al. [61], se diferențiază *tulburări de neurulare primară* (craniorahischizis, spină bifidă, exencefalie/encefalie, mielomeningocel), în care tubul neural nu reușește să inițieze închiderea, lăsând deschisă cea mai mare parte a creierului și întreaga coloană vertebrală. Autorul descrie și *tulburările de neurulare secundară*, în care se atestă o incapacitate a tubului neural de a se delimita complet de țesuturile alăturate și care deseori este asociată cu acumularea țesutului adipos prin mecanisme cu etiologie necunoscută. În acest context, se pot atesta și o serie de mecanisme specifice. Astfel, hernia cerebrală, cu sau fără țesut cerebral, printr-un defect cranian, cauzează encefalocelul, în timp ce un defect similar în regiunea spinării

cauzează meningocelul [61]. În același timp, se pot identifica combinații frecvente de malformații ale sistemului nervos, cum ar fi spina bifidă, heterotopia periventriculară, polimicrogiria, displazia cerebelului și a corpului calos (figura 1) [61].

Astfel, *neurularea primară* include procesul de pliere a laturilor laterale ale plăcii neurale și fuziunea pliurilor neurale pentru a forma tubul neural, care apare între 17 și 28 de zile de gestație. De regulă, din cauza închiderii anormale a tubului neural sau a dezvoltării anormale a mezodermului, pot apărea anomalii ca anencefalia sau encefalocelul (figura 1) [61,62].

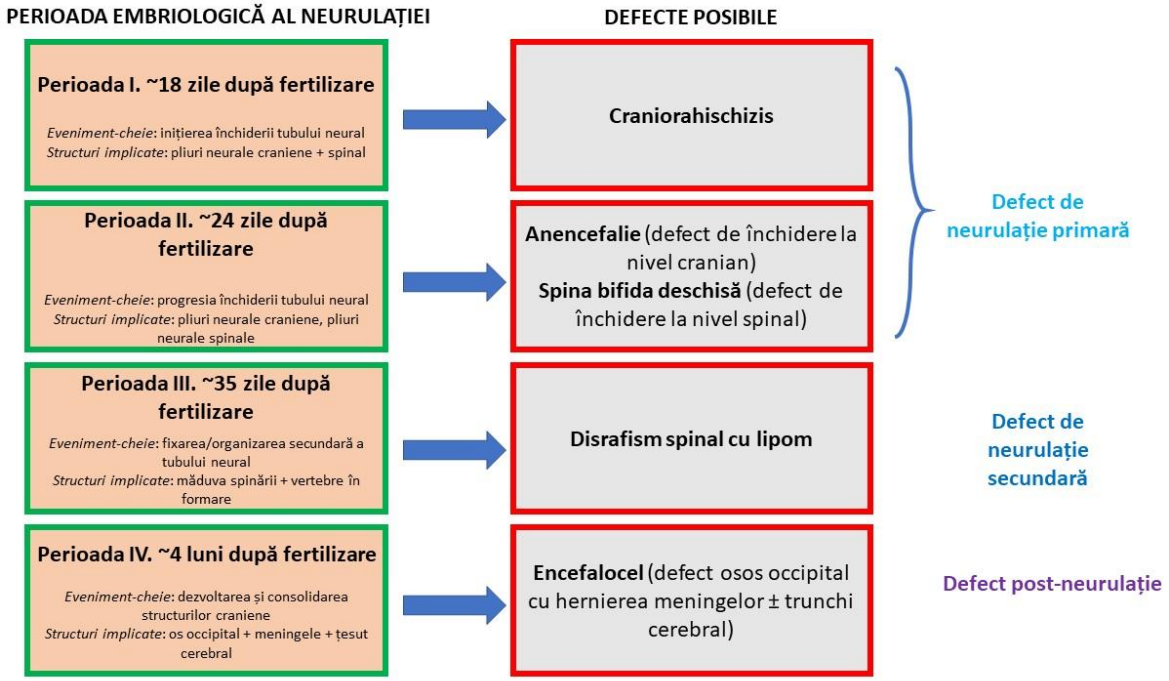


Figura 1. Reprezentare schematică a originii embriologice a principalelor tipuri de defecte ale tubului neural (adaptat schematic și tradus după Greene et al., 2014) [61]

În cadrul *neurulării secundare*, are loc formarea coloanei lombare inferioare, a coloanei sacrale și a coloanei coccigiene dintr-o masă celulară caudală. În acest proces au loc fenomene de apoptoză, proliferare a neuroepiteliului, migrare a crestei neurale, contracție a microfilamentelor și a tubulilor citoscheletici (proces de flexie dorsolaterală). Atunci când acest mecanism de dezvoltare este perturbat, se formează defecte secundare de neurulație, unul dintre acestea fiind *spina bifidă* [61,62]. În etiologia malformațiilor congenitale ale sistemului nervos, factorii genetici și de mediu joacă un rol important [63]. În ultimele trei decenii, cercetările privind malformațiile congenitale ale sistemului nervos au acordat o atenție sporită polimorfismelor genelor implicate în ciclul folatului și interacțiunii acestora cu factorii de mediu nefavorabili, atât preconcepțional, cât și postconcepțional [25,28]. Printre aceste gene, metilentetrahidrofolat reductaza (*MTHFR*) joacă un rol esențial în metabolismul intracelular al folatului, implicat în sinteza și metilarea ADN-ului. Un polimorfism comun, C677T, determină înlocuirea citozinei cu timina în exonul 4 al genei, ceea

ce duce la substituirea alaninei cu valina în domeniul catalitic al enzimei și la reducerea activității sale catalitice [64].

Genotipurile heterozigote (CT) și homozigote (TT) pentru alela T sunt asociate cu niveluri scăzute de folat tisular și cu un risc crescut de defecte ale tubului neural (DTN). Aceste genotipuri au fost mai frecvent identificate la mamele copiilor cu DTN, comparativ cu cele ale mamelor fără DTN, la care predomină genotipul CC [19–21]. De asemenea, s-a constatat că homozigozitatea pentru alela T, în combinație cu un aport scăzut de acid folic matern, determină creșterea nivelului de homocisteină plasmatică – un posibil factor teratogen fetal [25,65].

Bailey et al. au subliniat riscul crescut de DTN în rândul femeilor hispanice purtătoare ale polimorfismului *MTHFR C677T*, acesta fiind mai prevalent în acest grup comparativ cu alte populații (afro-americani, asiatici, europeni) [66]. Alte studii confirmă rolul acestui polimorfism în creșterea incidenței DTN și a altor malformații congenitale multiple, precum și în apariția spinei bifide, anencefaliei, fantei labiale și palatine, defectelor cardiace și a trisomiilor 21 și 18 [67].

Pe lângă *MTHFR*, alte gene implicate în metabolismul folatului, precum *MTR* și *MTRR*, contribuie la procesele de metilare prin transferul grupărilor metil către homocisteină [68]. Mutațiile în aceste gene, asociate cu un aport inadecvat de acid folic [69], pot crește riscul de anomalii congenitale ale sistemului nervos [70].

Literatura de specialitate susține etiologia multifactorială a MCSN, în care factorii genetici, aportul alimentar, precum și comorbiditățile materne, cum ar fi bolile gastrointestinale sau renale, pot influența absorbția acidului folic, amplificând efectul mutațiilor genelor ciclului folatului [43]. Diverse combinații între factorii genetici și diferiți agenți nocivi sunt frecvent asociate cu apariția malformațiilor sistemului nervos la făt [71]. Blanco Muñoz S. et al. (2005) au evidențiat, în studiul lor, rolul nivelului socioeconomic scăzut al părinților, combinat cu condițiile de muncă nocive, ca fiind unul dintre factorii de risc substanțiali în dezvoltarea malformațiilor congenitale ale sistemului nervos la făt, în majoritatea cazurilor vizând dezvoltarea anencefaliei [72]. În unele populații cu nivel sporit de consanguinitate, se atestă un risc sporit de dezvoltare a diferitelor boli genetice, a anomaliilor de dezvoltare, inclusiv MCSN [73]. Anomaliile congenitale ale sistemului nervos sunt mai frecvente în familiile cu antecedente genetice nefavorabile și pot fi cauzate de anomalii cromozomiale în circa 10% din cazuri [2,74].

Rolul deosebit al acestui proces a fost demonstrat în cadrul unui studiu științific efectuat de Centrul Național de Genetică Reproductivă și Medicală din RM în anul 2009. Această cercetare a vizat specificitatea populațional-genetică a variantelor polimorfismului genei *MTHFR* și frecvența alelei C677T în grupul de pacienți examinați din populația RM. Studiul a demonstrat că genotipul heterozigot C677T s-a manifestat la 44,0% din cazurile studiate, iar genotipul mutant homozigot T677T s-a manifestat în proporție de 15,0%, ceea ce poate reprezenta un factor etiologic major în

formarea defectelor de tub neural [19–21].

Factorii de mediu contribuie la dezvoltarea anormală cerebrală în timpul embriogenezei timpurii. De exemplu, expunerea la substanțe toxice sau la infecții în perioada incipientă a sarcinii poate duce la anomalii congenitale ale sistemului nervos [75].

Mitchell L. (2005) au subliniat influența anumitor factori nocivi, cum ar fi abuzul de alcool, medicamentele (citostaticele, anticonvulsivantele, antiepilepticele), substanțele toxice exogene, bolile materne cronice, infecțiile intrauterine, asupra dezvoltării normale a fătului, ducând la formarea defectelor de tub neural. Autorul a remarcat, în special, efectul hipertermiei intrauterine asupra embrionului uman, care provoacă perturbarea proliferării, migrației, diferențierii și apoptozei celulare, ducând astfel la formarea unor anomalii congenitale la făt [76].

De asemenea, în anul 2022, au fost identificați următorii factori teratogeni: factorii infecțioși – infecții materne din complexul TORCH (toxoplasmoză, alte infecții, rubeolă, citomegalovirus și herpes simplex), virusul Zika, bolile metabolice ale mamei (diabetul zaharat, obezitatea), consumul de alcool, fumatul etc. [43].

În 2023, Chugunova L. et al. au demonstrat că folatul are o funcție protectoare împotriva agenților teratogeni și factorilor de mediu dăunători, contribuind astfel la funcționarea corespunzătoare a placentei și la dezvoltarea fiziologică normală a fătului. Hiperhomocisteinemia, în combinație cu deficitul de acid folic, accelerează procesul de tromboză în placentă, ducând la apariția complicațiilor în timpul sarcinii, dependente de nivelul homocisteinei în organismul matern [1].

S-a constatat că acidul folic este un cofactor important pentru stimularea eritropoiezei în timpul metabolismului colinei și histidinei, care joacă un rol esențial în metilarea ADN-ului și ARN-ului în timpul formării și regenerării țesuturilor, cu capacitate proliferativă sporită [9,77]. Transportul transmembranar al folatului este mediat de receptori și transportatori specifici. Folatul alimentar este absorbit în intestin și transportat în ficat, unde este transformat în tetrahidrofolat și metabolizat ulterior în 5-metiltetrahidrofolat (5-metil-SCR) [78].

Creșterea incidenței unor malformații congenitale ale sistemului nervos subliniază necesitatea unor cercetări continue pentru identificarea factorilor de risc și dezvoltarea strategiilor preventive [1]. Această tendință ascendentă poate reflecta atât îmbunătățirea metodelor de diagnostic prenatal și postnatal, cât și expunerea tot mai frecventă la factori de mediu nocivi, modificările stilului de viață și persistența unor carențe nutriționale periconcepționale. În acest context, cercetarea aprofundată a interacțiunii dintre susceptibilitatea genetică (inclusiv polimorfismele genelor implicate în metabolismul folatului) și factorii epigenetici sau ambientali devine esențială pentru înțelegerea mecanismelor etiopatogenetice ale acestor malformații. O mai bună cunoaștere a acestor mecanisme ar putea contribui nu doar la clarificarea etiologiei cazurilor

izolate sau familiale, ci și la identificarea unor biomarkeri moleculari relevanți, cu potențial de a fi integrați în modelele predictive de risc și în protocoalele de monitorizare a sarcinilor cu o posibilă evoluție patologică.

1.3. Evoluția diagnosticării malformațiilor congenitale ale sistemului nervos în perioadele preconcepțională și postconcepțională

Malformațiile congenitale ale sistemului nervos nu au fost înțelese și diagnosticate complet pe parcursul istoriei, totuși, evaluarea manuscriselor din diferite perioade istorice relevă menționări ale acestor boli. Analizele arheologice au confirmat prezența multor cazuri de copii afectați de aceste anomalii în civilizațiile Egiptului Antic și mediteraneene [79]. De asemenea, primele mențiuni despre spina bifidă nu proveneau din texte medicale, ci din reprezentări vizuale, cum ar fi statuetele olmec (cca 1500 î.H.) sau ceramica precolumbiană Colima (cca 200 d.H.), unde se pot observa semne clinice recognoscibile – postură caracteristică, cifolordoză, cap mărit, ceea ce arată că, în etapa respectivă, aceste patologii erau observate mai mult morfologic [80].

În diferite perioade istorice, cel mai frecvent au fost descrise hidrocefalia congenitală și spina bifidă. Mai mulți autori antici (Hipocrate, Celsius, Galen) au descris fenomenul de hidrocefalie ca „apă deasupra capului”, indicând intervenții de trepanare cu scop de drenaj și considerând colecția lichidului ca fiind extraaxială, dar nu ventriculară [79]. În Evul Mediu, „*aqua in capitibus puerorum*” era considerată principala boală a sugarilor, fiind îmbunătățite tehnicele de incizie chirurgicală. În perioada Renașterii s-a început tranziția către anatomia modernă, iar Andreas Vesalius, disecând copii decedați, a evidențiar pentru prima dată lichidul cefalorahidian în ventricule și a infirmat vechea teorie extraaxială a hidrocefaliei, în timp ce Girolamo Mercuriale dedica hidrocefaliei infantile un capitol separat în primul tratat de medicină pediatrică din 1583. Totuși, ameliorarea diagnosticării bolilor s-a produs odată cu îmbogățirea cunoștințelor anatomice privind localizarea acestor boli și structurile implicate. Astfel, deși diagnosticul rămânea clinic și macroscopic, în perioada de după Renaștere deja se raportau cazuri clinice și se analiza posibilitatea tratamentului și s supraviețuirii copiilor afectați.

Termenul „spina bifida” a fost utilizat pentru prima dată de Nicolaas Tulp de asemenea în secolul al XVII-lea, în baza observațiilor anatomico-chirurgicale la nou-născut.

În secolele XVII-XIX, tehnica de bază de diagnosticare era cea anatomopatologică prin autopsii post-mortem [80]. În cazul hidrocefaliei, în a doua jumătate a secolului al XVIII-lea, Giovanni Morgagni a corelat detaliat tabloul clinic cu constatarea făcută la autopsie, măsurând volumele lichidului ventricular la copii, și a formulat ipoteza distrugerii progresive a parenchimului cerebral prin hipertensiune lichidiană. În această epocă, multe din MCSN au început să fie analizate profund, fiind elaborate primele clasificări macroscopice. Începând cu secolele XVII-XVIII, doar microscopia probelor histologice de țesut cerebral, obținute la autopsie,

era utilizată pentru stabilirea diagnosticului de anomalii ale sistemului nervos al fătului [81]. Odată cu apariția microscopiei electronice în secolul al XX-lea, a devenit posibilă studierea structurilor intracelulare și a morfogenezei cerebrale [82].

La începutul secolului al XX-lea, diagnosticarea a depășit deci etapa de autopsie și a început să fie realizată prin primele investigații imagistice. Astfel, Walter Dandy a introdus ventriculografia, obținând imagini ale sistemului ventricular la pacienți vii, iar William A. Evans a standardizat interpretarea dimensiunilor craniene prin raportul radiologic Evans. Astfel, pentru prima dată, hidrocefalia congenitală putea fi confirmată in vivo, cu implicații directe în abordarea clinică. Dezvoltarea imagisticii în perioada postbelică, de asemenea, a permis identificarea structurilor implicate în procese de spină bifidă, mielomeningocel și encefalocel [80].

Perfecționarea tehnicilor de imagistică a determinat extinderea posibilităților de diagnostic în medicina pediatrică, iar ulterior, tehnicile de laborator și cele genetice au contribuit la extinderea cunoștințelor cu privire la aceste patologii [83].

Până la sfârșitul anilor 1960, examinarea leziunilor cerebrale se făcea indirect, în special se utilizau tehnici invazive, precum pneumoencefalografia și ventriculografia cu aer. Acest tip de examinări au fost dominante până în anii 1960, oferind informații limitate și cu morbiditate ridicată [83]. Alte tehnici, precum tomografia planară mecanică (anii 1930-1960), permiteau o detalizare mai bună, însă expuneau pacienții la un nivel înalt de iradiere, ceea ce nu le-a transformat în investigații de rutină.

În anii 1970, dezvoltarea tomografiei axiale a permis vizualizarea detaliată a diferitelor structuri craniocerebale, transformând diagnosticul hidrocefaliei, al craniosinostozelor sau al altor DTN-uri în explorări rapide și neinvazive. Tomografia computerizată (TC) a fost urmată de prima imagine de rezonanță magnetică în 1977, iar lipsa radiațiilor ionizante și contrastul tisular superior au făcut ca RMN să devină metoda de referință pentru anomaliile structurale subtile (agenezii de corp calos, malformații ale fosei posterioare) [83].

La mijlocul anilor 1970 a debutat „era biochimică” în diagnosticul MCSN, odată cu confirmarea ipotezei că nivelul seric matern de α-fetoproteină (AFP), măsurat în săptămânile 16-18 de gestație, diferențiază sarcinile cu anencefalie sau spina bifidă deschisă de cele neafectate. Un studiu colaborativ britanic a furnizat primele valori prag și a transformat AFP în primul test de screening prenatal recomandat populațional [83]. În anii următori, precizia analitică sporită, exprimarea rezultatelor ca multiplu al medianei gestaționale și corecția pentru greutatea maternă ori datarea ecografică prin diametrul biparietal au îmbunătățit sensibilitatea la ≈85% și au redus rata de rezultate fals pozitive la 1,4% [83].

Odată cu perfecționarea ultrasonografiei, anii 1980-1990 deschid „era morfologică de trimestru II”: examinarea anatomică sistematică la 18-20 de săptămâni („*genetic sonogram*”)

identifică astăzi toate cazurile de anencefalie și ≈95% din spina bifidă, fără rezultate fals pozitive detectabile, depășind performanța AFP [83]. În paralel, semnele ecografice craniene timpurii ale spinei bifide – *scalloping* frontal (semnul „lămâii”) și curbura cerebeloasă (semnul „bananei”), aplicate la scanarea de datare din trimestrul II, au sporit rata de detecție la peste 90% [83].

Progresele tehnice au deschis apoi „fereastra din trimestrul I”. Astfel, începând cu 2009, au fost validați diverși markeri, precum translucența intracraniană, măsurarea ventriculului IV embrionar, raportul trunchi cerebral – os occipital, astfel încât o singură secțiune ecografică la 11-13 săptămâni de sarcină poate depista până la jumătate din DTN, iar protocoalele complexe ating o sensibilitate de peste 80-90% [83]. Actualmente, diagnosticarea prenatală timpurie a malformațiilor congenitale și a patologiilor ereditare are ca obiectiv principal reducerea mortalității infantile și a dizabilităților asociate [1], precum și depistarea la timp a afecțiunilor materne cu impact asupra dezvoltării fetale [84]. Conform recomandărilor EUROCAT, majoritatea țărilor europene efectuează un screening ecografic de prim trimestru [85], în mod ideal – până la 12 săptămâni de gestație. În același interval (11–13 săptămâni), protocolul combinat include determinarea markerilor serologici PAPP-A și β-hCG, corelați cu datele ecografice [86].

Pentru al doilea trimestru, în multe state europene și în SUA se utilizează testul triplu (AFP, estriol liber, β-hCG) între 15 și 18 săptămâni, la care se adaugă ecografia de morfologie detașată [84,87]. În Republica Moldova se aplică aceleași principii [88], iar pachetul obligatoriu de diagnostic prenatal cuprinde determinarea Rh-ului matern și screeningul pentru sifilis, infecția HIV, hepatitele virale B/C, la care se adaugă testul serologic triplu sau cvadruplu și ecografia fetală de trimestru II [88,89]. Astfel, practica actuală integrează succesiv: ultrasonografia și biochimia de trimestru I, testele serologice de trimestru II, plus investigațiile standard ale infecțiilor și imunologice [3].

Ultrasonografia fetală este investigația imagistică de primă intenție în toate trimestrele de sarcină, care permite evaluarea morfologiei fetale și detectează anomalii precum anencefalia, spina bifidă, hidrocefalia și sindromul Dandy-Walker; metoda este neinvazivă, sigură și repetabilă [90,91]. Examenul include datarea gestației, depistarea sarcinilor multiple, identificarea defectelor structurale (tub neural, cord, schelet, rinichi) și măsurarea markerilor ecografici fetali (translucență nucală, os nazal, canal venos, regurgitare tricuspidiană, frecvență cardiacă) [89,90]. Imagistica Doppler se adaugă pentru evaluarea fluxului fetoplacentar, fiind utilă mai ales atunci când apar sindroame genetice asociate cu tulburări circulatorii [92].

Pentru cazurile în care ultrasonografia ridică suspiciuni sau necesită clarificări, imagistica prin rezonanță magnetică (IRM) fetală oferă vizualizare detaliată a structurilor cerebrale și ajută la prognosticul postnatal. Experții rețelei Neuro-MIG recomandă efectuarea IRM la începutul trimestrului al II-lea sau al III-lea, iar uneori chiar mai devreme în gestație, pentru a depista

malformațiile severe [56,93–95]. Algoritmul propus de Neuro-MIG (2020) integrează anamneza obstetrică, evaluările prenatale și postnatale, testele genetice și cele două modalități imagistice – ultrasonografia și IRM – pentru o abordare standardizată a defectelor tubului neural [95].

Actualmente se atestă o dezvoltare tehnologică accelerată, în paralel cu raportarea și implementarea rapidă a noilor dovezi științifice în practica clinică. Astfel, în multe țări astăzi s-a renunțat la testul de alfa-fetoproteină și se utilizează ultrasonografia ca examen de rutină [83]. Progresele recente în imagistica prenatală (ultrasonografie de prim trimestru și IRM fetală) [96] și în testarea genetică au crescut semnificativ rata de detecție a defectelor de tub neural și a altor malformații congenitale ale sistemului nervos încă din săptămânile 11-14 de gestație [85,88]. Identificarea timpurie oferă timp pentru decizii informate de management al sarcinii [97], permite planificarea intervențiilor postnatale imediate și îmbunătățește prognosticul și calitatea vieții copilului [85,89,98,99].

1.4. Particularitățile de manifestare clinică și de diagnostic al principalelor forme de MCSN

Recent, Van der Knaap et al. (2023) au elaborat o clasificare clinică a MCSN în baza mecanismului patogenetic implicat, corelat cu funcționalitatea regiunii afectate a sistemului nervos. Această structurare permite identificarea unor entități malformative cu prevalență semnificativă și caracteristici bine definite, care includ: *malformații ale fosei posterioare* (precum sindromul Dandy-Walker și sindromul Arnold-Chiari), *defecte de tub neural* (anencefalia, spina bifidă, meningomielocelul), *malformații structurale cerebrale* (microcefalia, hidrocefalia congenitală, agenezia corpului calos), *anomalii ale dezvoltării craniului* (craniostenoza congenitală), precum și *alte anomalii cerebrale* (atrofia cerebeloasă, chisturile cerebrale). În continuare, în baza clasificării clinice după Von der Knaap (2023), vom descrie trăsăturile definitorii ale diferitelor tipuri de MCSN (aspecte etiologice, particularități clinice) și particularitățile de diagnostic clinic și paraclinic [51].

Malformații congenitale ale fosei posterioare cerebrale

Sindromul Dandy-Walker *(ICD-10 Q03)*, cunoscut și sub numele de *malformația Dandy-Walker* (figura 2), reprezintă o malformație congenitală rară a sistemului nervos (1 la 25.000-50.000 n.n.), rezultată din dezvoltarea anormală a cerebelului și a sistemului ventricular. Etiologia malformațiilor fosei posterioare este considerată complexă multifactorială, iar printre factorii de risc implicați se numără anomaliile cromozomiale, malformațiile sindromice, infecțiile congenitale și afecțiunile cronice ale părinților [100]. Sindromul Dandy-Walker a fost asociat și cu anumite complicații ale sarcinii: anamneza familială de avort spontan (OR = 2,4) [101] și sarcini complicate de diabetul gestațional [102]. Hatim Khalil et al. au relevat, într-un studiu retrospectiv,

că dezvoltarea sindromului Dandy-Walker este influențată în special de combinațiile anumitor factori etiologici (infecții intrauterine – rubeola, toxoplasma și citomegalovirusul; consumul de alcool) [103].

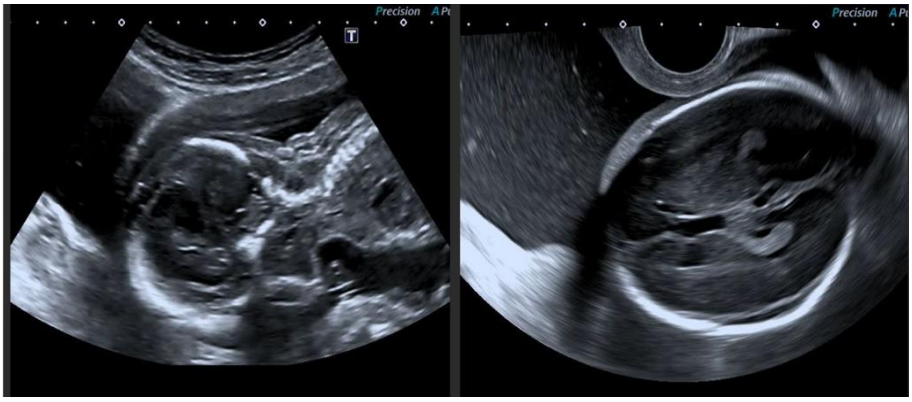


Figura 2. USG fetală la 21 de săptămâni: diagnostic sugestiv de sindrom Dandy-Walker.
Sursa: cazuistica proprie.

Diagnosticul poate fi stabilit încă din primul trimestru de sarcină, prin identificarea unor semne ultrasonografice specifice (figura 2), precum hipoplazia sau agenezia vermisului cerebelos, dilatarea chistică a ventriculului IV cu extinderea fosei posterioare, ventriculomegalia asociată și înălțarea tentoriului. Detectarea cât mai devreme posibil a acestor modificări structurale permite estimarea timpurie a prognosticului fetal, evaluarea oportunității unor eventuale intervenții intrauterine și planificarea corespunzătoare a managementului postnatal [101].

Sindromul Arnold-Chiari *(ICD-10 Q07.0)*, numit și *malformația Chiari* (figura 3), cuprinde o grupă de anomalii structurale în fosa posterioară, cerebel, punte și bulbul rahidian (*medulla oblongata*). Pe lângă diverși factori endogeni și exogeni implicați în etiologia acestui sindrom [1], se remarcă factorii genetici (mutațiile genetice pe cromozomii 1 și 22) în dezvoltarea sindromului Chiari [104]. Simptomele malformațiilor Chiari variază foarte mult, incluzând cefalee severe, vertij și parestezii, odinofagie, alături de alte simptome neurologice [105].

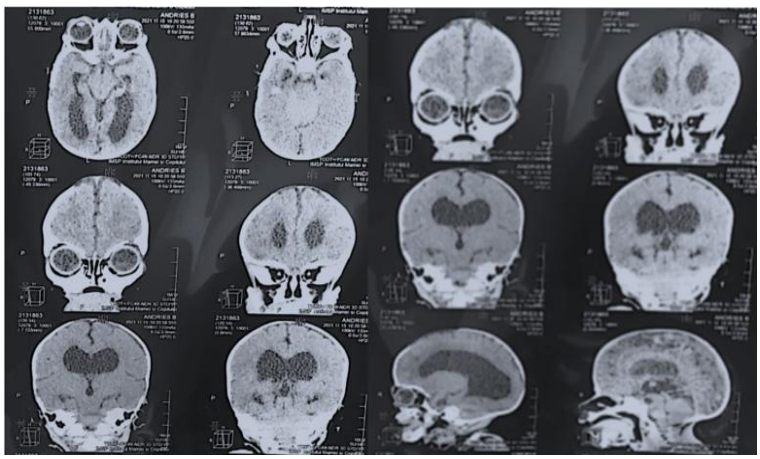


Figura 3. TC cerebrală la copil de 2 ani: malformație Arnold-Chiari de tipul I.
Sursa: cazuistica proprie.

Sunt diferențiate patru tipuri ale sindromului: Chiari I, Chiari II, Chiari III și Chiari IV. Este de menționat că Chiari I reprezintă tipul cel mai răspândit, întâlnit mai frecvent la sexul feminin, și afectează 0,5-3,5% din populația pediatrică, iar sindromul Chiari II apare la 0,44 din fiecare 1000 de nou-născuți anual și poate fi prevenit prin suplimentarea cu acid folic [104].

Metoda principală de diagnosticare este screeningul prenatal cu ultrasunete, completat de TC și IRM. Principalele caracteristici radiologice ale sindromului Arnold-Chiari sunt prolapsul amigdalelor cerebeloase sub nivelul foramenului occipital superior și formarea unor cavități sau chisturi în măduva spinării, mai frecvent în regiunile cervicală și toracică (figura 3) [106].

Defecte de tub neural

Anencefalia (*ICD-10 Q00.0*) este o malformație de închidere a tubului neural anterior, care se dezvoltă în primul trimestru al sarcinii și se caracterizează prin absența dezvoltării creierului rostral și a calotei craniene, incompatibilă cu supraviețuirea postnatală [107]. Această anomalie reprezintă o indicație medicală pentru întreruperea prematură a sarcinii [60]. Literatura de specialitate actuală sugerează că anencefalia este adesea combinată cu defecte spinale [108], precum și cu alte malformații fetale frecvente, cum ar fi cele faciale, cardiace, genitourinare, gastrointestinale și scheletice [91].

Anencefalia este adesea confirmată în primul trimestru de sarcină, în timpul screeningului prenatal, când testele serice materne relevă valori ridicate de alfa-fetoproteină [109], iar ultrasonografia fetală este standardul pentru confirmarea prezenței acestei anomalii încă de la 11 săptămâni de sarcină [91]. Semnele ultrasonografice ale anencefaliei în primul trimestru sunt: volumul mare de lichid amniotic, dimensiunile reduse ale regiunilor parietale și sacrale, o față triunghiulară, aspect de „ochi de broască” din cauza absenței bolții craniene și a proeminenței relative a craniului (figura 4) [84].

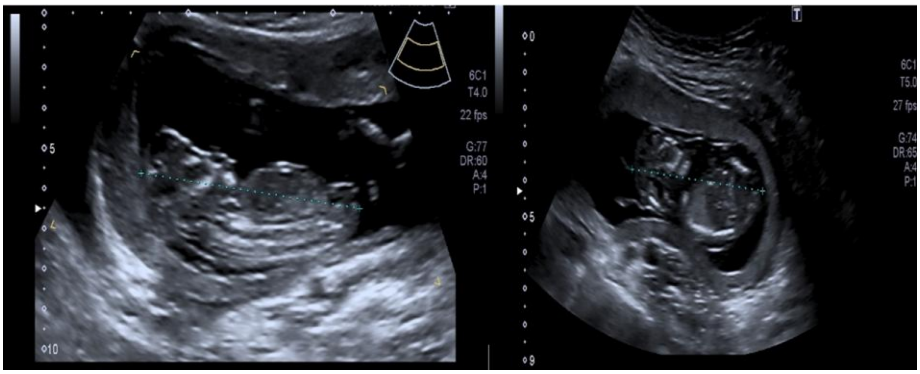


Figura 4. USG fetală la 12 săptămâni: diagnostic sugestiv de anencefalie.
Sursa: cazuistica proprie.

Spina bifidă *(ICD-10 Q05)* este o anomalie a sistemului nervos ce rezultă dintr-o tulburare de formare a tubului neural, care se dezvoltă în a doua și a șasea săptămână de dezvoltare intrauterină în timpul formării SNC [95,110]. Până în prezent, factorul etiologic exact al spinei

bifide nu a fost identificat. Se consideră că această anomalie se formează drept rezultat al unei combinații de factori, cum ar fi factorii de mediu [23], sociodemografici (vârsta, etnia, educația maternă, venitul familiei), genetici și nutriționali (suplimentarea cu vitamine la concepție, consumul de apă de la robinet și aportul alimentar de nitrați), care afectează organismul mamei (expunerea la substanțe toxice, mediu poluat, medicație în timpul gestației) [111,112]. În baza unui studiu epidemiologic de tip caz-control realizat în Texas (SUA), care a folosit date din *Registrul defectelor congenitale din Texas*, s-a demonstrat că fiecare creștere a IMC matern cu ≥1 unitate se asociază cu un risc cu 5% mai mare de spină bifidă la copil (OR = 1,17), iar un IMC matern sub valorile normale scade probabilitatea acestui defect congenital cu 95% (OR = 0,73) față de IMC normal [113].

Potrivit cercetătorilor Au K.S. și Ashley-Koch A. (2022), incidența spinei bifide în Europa variază între 1 și 10 cazuri la 1000 de nașteri vii pe an, iar diferențele de incidență sunt atribuite nivelului de dezvoltare a țării și stării socioeconomice a familiei [114]. Astfel, un studiu din Țările de Jos a relevat că, în regiunile cu dezvoltare socioeconomică medie sau înaltă, rata spinei bifide este mai redusă [64]. De asemenea, pentru multiple MCSN se studiază și legătura dintre activitatea profesională parentală și riscul de apariție a bolii la descendenți. Într-un studiu suedez (1976-1991; 482 cazuri, 964 controale), munca agricolă maternă s-a asociat cu spina bifidă (OR 1,8), risc ce urcă la (OR 2,2) când mama lucrează sau locuiește la fermă; alte ocupații nu au fost asociate statistic semnificativ cu boala. Datele limitate privind tații sugerează, de asemenea, un risc sporit la lucrătorii agricoli expuși la pesticide [115].

Principalele semne ultrasonografice fetale sunt: defect al coloanei vertebrale care se manifestă ca un arc vertebral divizat (lipsa închiderii posterioare a canalului vertebral) la nivelul uneia sau mai multor vertebre, mai frecvent în regiunea lombosacrală [116]. Acest defect poate fi observat pe secțiunile longitudinale sau transversale ale coloanei vertebrale (figura 5) [117].

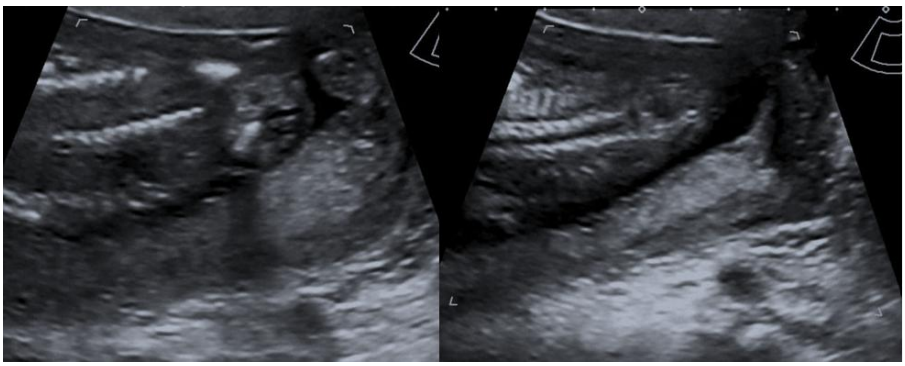


Figura 5. USG fetală la 12 săptămâni: diagnostic sugestiv de spină bifidă.
Sursa: cazuistica proprie.

Meningomielocelul *(ICD-10 Q05)* este un defect congenital de tub neural cauzat de închiderea incompletă a tubului neural în timpul procesului de neurulație primară în dezvoltarea

fetală (figura 6). Această anomalie perturbă dezvoltarea normală a sistemului nervos la copii și reprezintă o problemă socială semnificativă datorită ratelor ridicate de morbiditate și mortalitate [118]. Kancherla V. et al. (2020) au raportat o rată de supraviețuire de 96,0% în prima săptămână și de 94,5% în primul an de viață. Ratele înalte ale mortalității au fost asociate cu nașterile premature, prezența concomitentă a mai multor defecte congenitale și greutatea scăzută a copilului la naștere [14]. Cercetările recente au demonstrat impactul unic al influenței parentale asupra riscului de meningomielocel congenital la copii [112], în special la expunerea maternă la substanțe toxice, radiație electromagnetică, în cazul utilizării antiepilepticelor, precum și în anumite stări (obezitate, diabet pregestațional) [95].

Principalele semne ultrasonografice fetale ale meningomielocelului sunt defectul peretelui posterior al canalului rahidian, cu aspect sacciform, poziționat în afara coloanei vertebrale, ce conține lichid cefalorahidian și elemente ale măduvei spinării și ale rădăcinilor nervoase. Meningomielocelul se localizează cel mai adesea în regiunea lombosacrală, acesta fiind semnul ultrasonografic principal (figura 6) [1].

Figura 6. USG fetală la 12 săptămâni: diagnostic sugestiv de meningomielocel congenital.
Sursa: cazuistica proprie.

Malformații structurale ale creierului

Microcefalia (*ICD-10 Q02*) este o patologie cerebrală cu micșorarea circumferinței craniului, ceea ce duce la o dezvoltare psihomotorie întârziată [90,119,120].

Etiologia acestei malformații este eterogenă, incluzând factori genetici și de mediu, care interacționează cu diverse procese biologice implicate în dezvoltarea embrionară și fetală. O serie de factori parentali (predispoziție genetică, boli autoimune și interacțiuni de mediu) sunt asociați cu prezența microcefaliei la descendenți [121]. Studii genetice recente au evidențiat o contribuție majoritară a factorilor ereditari, demonstrând originea genetică a microcefaliei în 37% din cazuri, precum și identificând unele mutații noi în cinci gene implicate în patogeneză, în special gene ale tubulinei și ale grupului MCPH [120]. S-a constatat că folosirea medicamentelor antiinflamatoare nesteroidiene în timpul sarcinii a fost asociată cu un risc sporit de microcefalie (OR = 2,4) [122,123]. Microcefalia a fost descrisă și ca o consecință a infecției cu virusul Zika, iar această

afecțiune teratogenă nouă impune o revizuire a criteriilor de screening pentru nou-născuți în țările cu risc [122,123].

Este de menționat faptul că diagnosticarea microcefaliei prin ultrasonografie (figura 7a) este cel mai adesea posibilă în al doilea trimestru de sarcină, când diferențele în dimensiunea craniană devin mai pronunțate. Unul dintre semnele principale ultrasonografice pentru diagnosticarea intrauterină a microcefaliei fetale este circumferința craniană redusă (RH), care este semnificativ mai mică decât cea așteptată pentru vârsta gestațională (de regulă, mai mică cu 2-3 deviații standard față de normă) [84]. Tomografia computerizată cerebrală este utilizată pentru confirmarea diagnosticului de microcefalie și pentru gradarea afectării sistemului nervos la copil (figura 7b). Principalele caracteristici ale microcefaliei detectate prin TC sunt reducerea volumului cranian și aplatizarea girusului, combinate cu reducerea adâncimii șanțurilor (*sulcus*) corticale, comparativ cu parametrii normali conform vârstei [90].

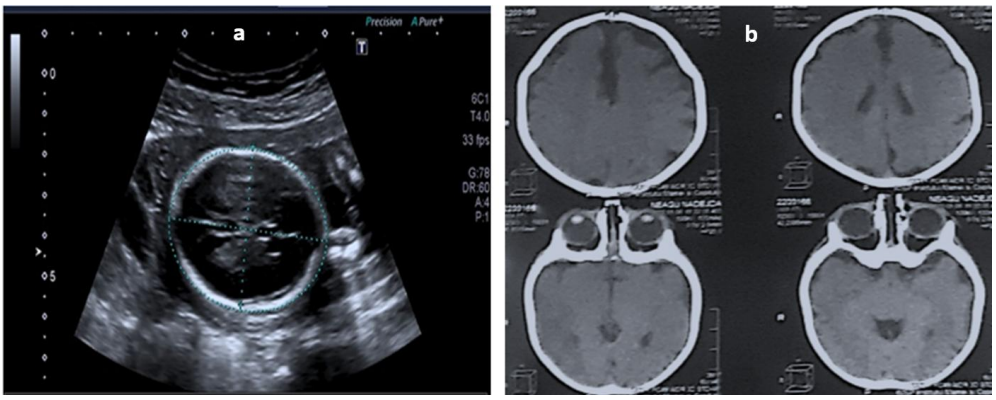


Figura 7. Aspect imagistic sugestiv pentru microcefalie congenitală.
Sursa: cazuistica proprie.
Nota: a) USG intrauterină la 12 săptămâni de gestație; b) TC cerebrală a copilului de 1 an.

Hidrocefalia congenitală (*ICD-10 Q03*) reprezintă o afecțiune caracterizată prin dilatarea anormală a sistemului ventricular cerebral, determinată de dezechilibrul dintre producția, circulația și resorbția lichidului cefalorahidian, ceea ce duce la acumularea excesivă a acestuia și la creșterea presiunii intracraniene [124].

Conform datelor din literatura de specialitate, au fost observate multiple interacțiuni și influențe ale diferiților factori în apariția hidrocefaliei:

- factori genetici – predispoziție familială, consangvinitate [125], combinații de mutații în genele DNAH2, TIE1, RNPC3, IFT172, TTC21B [126];
- acțiunea nefastă a agenților teratogeni sau condiții materne precum traumatismul în sarcină, infecțiile TORCH, consumul de alcool ori medicamente, diabetul, hipertensiunea cronică, lipsa îngrijirii prenatale și sarcinile multiple, expunerea la pesticide (OR 1,5-2,96) [124];
- factori parentali și asociați evoluției sarcinii – vârsta înaintată a părinților > 35 de ani (OR 1,56), în special a mamei >38 de ani (OR 12,74) sau a tatălui <25 de ani (OR = 1,66) [127];

situația socioeconomică deficitară (OR = 2,96) [128], mamă multipară (OR = 1,44) [129], infecția cu parvovirus B19 în primele 16 săptămâni [130], factori exogeni (traumatisme în timpul sarcinii, infecții materne, consum de alcool și utilizarea anumitor medicamente în timpul sarcinii) [131], nașterea prematură [125], greutatea la naștere mai mică de 1500 de grame (OR = 51,6) și între 1500 și 2000 de grame (OR = 14,1) și sexul masculin al fătului (OR 1,21-1,49) [129,132];

- alte cauze organice – tumori intracraniene, leziuni obstructive (stenoza apeductului cerebral 12,8%), infecții ale sistemului nervos și malformații asociate (trisomia X, lisencefalia, polimicrogiria) [133].

Rezultatele unui studiu realizat în Olanda arată că 11% din cazurile cu hidrocefalie congenitală primară au avut o anamneză familială agravată, pe când în 81% din cazuri cauza nu a fost determinată. Un studiu din Hunan (China) a relevat o variabilitate etiologică a cazurilor de hidrocefalie: origine infecțioasă 35%, neoplazică 32,5%, mecanică (stenoză) 12,8% [134]. Astrocitomul pilocitar al fosei craniene posterioare a fost cea mai frecventă cauză neoplazică (34,2%). În Danemarca, recurența familială a hidrocefaliei congenitale a fost de 1,5% și cel mai ridicat risc s-a constatat la gemenii de același sex [135,136]. Combinația factorilor de risc materni și exogeni, împreună cu malformațiile concomitente, cum ar fi trisomia X, lisencefalia și polimicrogiria, poate crește și mai mult probabilitatea ca copiii să se nască cu hidrocefalie congenitală [132]. Totodată, un alt studiu a identificat că interacțiunea complexă dintre factorii nocivi parentali, bolile materne cronice concomitente și diferitele aspecte socioeconomice este relevantă pentru înțelegerea complexității dezvoltării hidrocefaliei congenitale în țările în curs de dezvoltare și pentru determinarea măsurilor eficiente de prevenire [135].

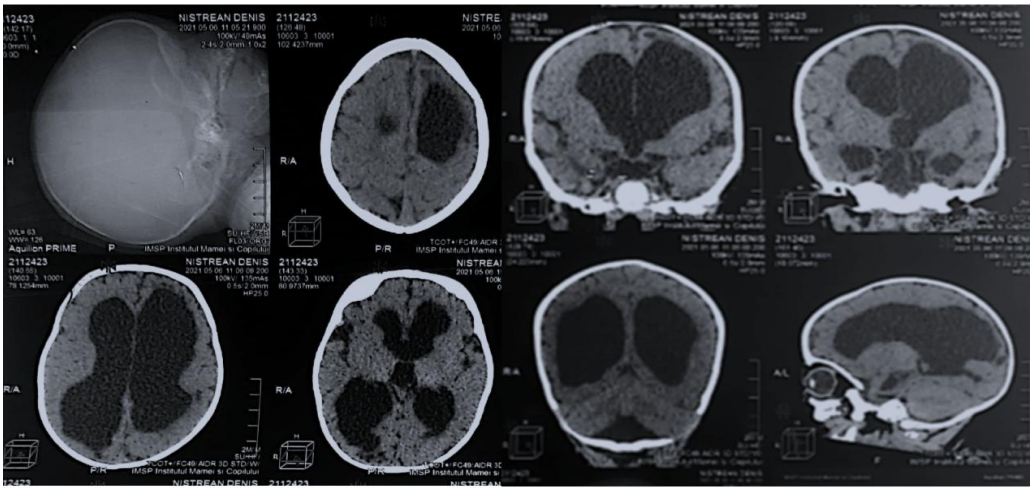


Figura 8. IRM cerebrală la copil de 1 an: hidrocefalie congenitală triventriculară.
Sursa: cazuistica proprie.

În ansamblu, varietatea factorilor implicați în apariția hidrocefaliei relevă interacțiuni complexe, astfel, actualmente se studiază impactul diferitelor combinații ale acestor factori, cu

accent pe asocierile dintre factorii genetici, agenții teratogeni, starea mamei preconcepțional/postconcepțional și factorii de mediu. Totuși, un model explicativ de consens încă nu a fost propus în literatura de specialitate [127,137].

Din punct de vedere clinic, copiii cu hidrocefalie au prezentat iritabilitate (52,1%) și cefalee (49,6%). Cele mai frecvente semne obiective au fost creșterea circumferinței craniene (31,6%), bradicardia (27,3%) și hipertensiunea arterială (27,3%) [138].

IRM cerebrală este utilizată pentru confirmarea diagnosticului de hidrocefalie, ea precizează gradul/tipul de dereglare licvorodinamică și identifică cauzele obstrucției/modificărilor secundare ale structurilor cerebrale [125]. Principalele semne ale hidrocefaliei detectate prin IRM sunt sporirea semnificativă a sistemului ventricular (ventriculul lateral, al treilea și/sau al patrulea ventricul), creșterea spațiului dintre pediculele cerebrale în partea bazală a trunchiului cerebral, a spațiului subarahnoidian și a șanțului cerebral (figura 8) [56].

Agenezia corpului calos *(ICD-10 Q04.0)* este o anomalie cerebrală rară, caracterizată prin absența totală sau parțială a corpului calos [86,139]. Din punct de vedere clinic, se prezintă adesea cu retard mintal, tulburări motorii și epilepsie, deși unele cazuri pot fi asimptomatice [139]. Această afecțiune poate apărea izolat sau împreună cu diferite sindroame neurologice. Deseori, anomalia se manifestă asimptomatic, de aceea datele privind incidența anomaliei în populație sunt incomplete [139]. Potențialii factori etiologici sunt mutațiile genetice (CDK5RAP2, DCC, EphB1, EphB2, Lhx2, NgR1 ș.a.), tulburările metabolice materne (afectează dezvoltarea corpului calos la făt), abuzul de alcool, infecțiile TORCH în timpul sarcinii și diverșii factori de mediu [140].

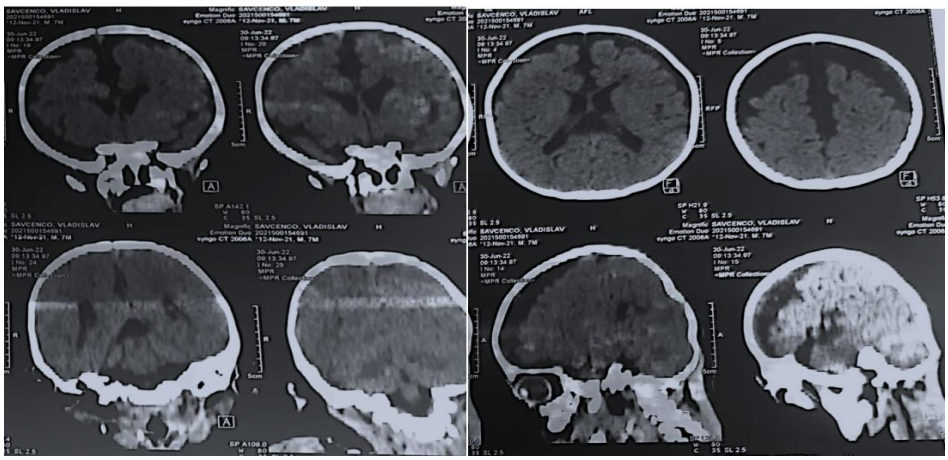


Figura 9. IRM cerebrală la copil de 2 ani: agenezia corpului calos. *Sursa: cazuistica proprie.*

Cele mai informative instrumente de diagnosticare a ageneziei corpului calos sunt USG și IRM a structurilor cerebrale [91]. Prin IRM cerebrală (figura 10) se poate vizualiza detaliat anomalia (absența completă sau parțială a corpului calos, care leagă emisferele cerebrale dreaptă și stângă), se poate evalua gradul de impact asupra dezvoltării cerebrale, se pot identifica posibile patologii asociate, cu scopul de a evalua prognosticul clinic [56].

Anomalii ale dezvoltării cerebrale

Craniostenoza congenitală *(ICD-10 Q75.0)* este un defect de tub neural, descris prin fuziunea prematură a uneia sau mai multor suturi craniene, cu manifestare asimptomatică ori diversă (numărul de complicații neurologice asociate) [141].

În literatura de specialitate, patologia frecvent se examinează pentru identificarea complexului de factori care au dus la apariția defectului. În special, vârsta paternă avansată prezintă un risc crescut de apariție a anomaliei, dat fiind că, odată cu înaintarea în vârstă, sporește acumularea de mutații ADN în spermă [86]. Pe lângă aceasta, au fost identificați o serie de factori materni sau asociați evoluției sarcinii, precum vicii postconcepționale (fumat matern, abuz de alcool) [142], dereglări metabolice materne (diabet zaharat, disfuncții tiroidiene etc.), medicația din timpul sarcinii [143]. Clomifenul (un agent antiestrogenic prescris în tratamentul infertilității) a fost asociat cu o creștere semnificativă a riscului de craniostenoză (OR = 12,71) [143]. Au fost determinate mecanismele prin care anumite medicamente (progesteronul, sertralina) manifestă efect teratogen – închiderea prematură a suturilor craniene în perioada critică a organogenezei [141]. Astfel, principalul semn al craniostenozei la IRM este închiderea prematură a suturilor craniene (sagitale, coronale, lambdoide și metopice), vizualizată ca o îngustare/absență a acestora (figura 10) [87].

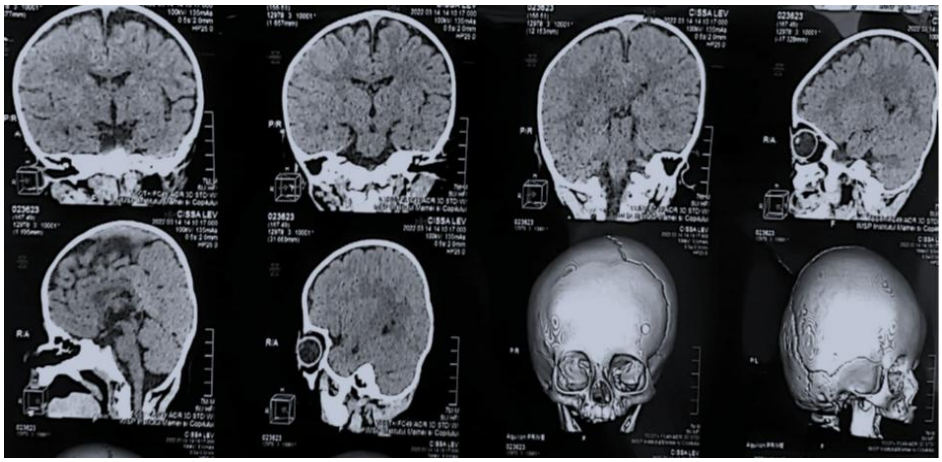


Figura 10. IRM cerebrală la copil de 1 an: craniostenoză congenitală coronară dreaptă completă. *Sursa: cazuistica proprie.*

Anomalii cerebrale nespecifice

Atrofia cerebeloasă congenitală *(ICD-10 Q04.8)* este o anomalie cerebrală care implică degenerarea cerebeloasă, provocând diverse tulburări motorii și cognitive la copii [144].

Printre factorii etiologici se numără: starea de sănătate a părinților, expunerea la toxinele din mediu și utilizarea medicamentelor specifice în timpul sarcinii (fenitoină, litiu, agenți de chimioterapie etc.) [145]. Kazuhiro I. et al. (2022) au studiat 188 de copii din 176 de familii și au evidențiat importanța factorilor genetici în diversitatea clinică a hipoplaziei și atrofiei cerebeloase. Studiul a constatat mutații genetice la CACNA1A, ITPR1 și KIF1A la 54,5% din familii (96 din

176). S-a observat că pacienții cu leziuni cerebrale supratentoriale au prezentat simptome clinice mai severe decât cei fără astfel de leziuni [144].

Pentru atrofia cerebeloasă, la IRM este caracteristică reducerea semnificativă a dimensiunii ambelor emisfere cerebeloase și a vermisului, care provoacă lărgirea șanțului (în special, în secțiunile sagitale și axiale) (figura 11) [1,107]

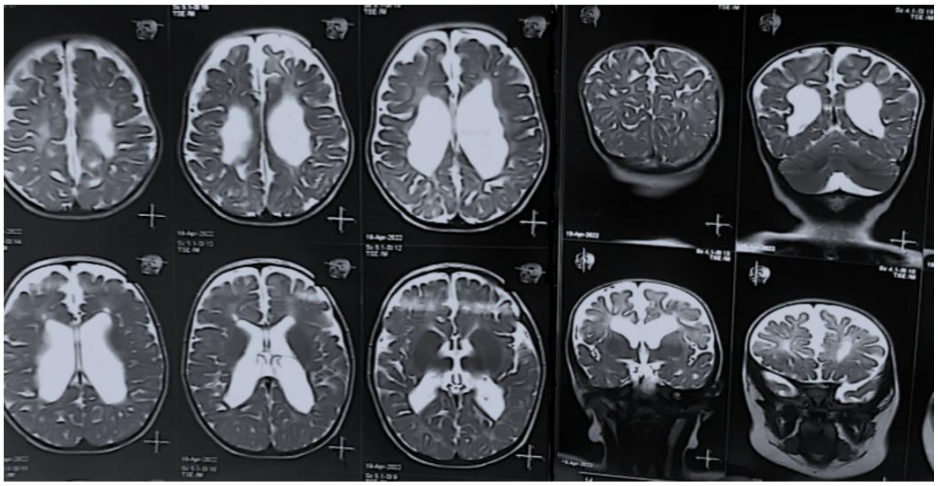


Figura 11. IRM cerebrală la copil de 2 ani: atrofie cerebeloasă congenitală.
Sursa: cazuistica proprie.

Chistul cerebral *(ICD-10, Q04)* este o malformație structurală a sistemului nervos central, rezultată din perturbări ale dezvoltării embrionare, cel mai frecvent sub forma unui chist arahnoidian (colecție de lichid cefalorahidian, învelită de o membrană arahnoidiană, cu potențial compresiv asupra structurilor cerebrale adiacente). În funcție de dimensiune și localizare, se poate manifesta asimptomatic sau poate determina hipertensiune intracraniană, tulburări motorii, convulsii și întârzieri în dezvoltarea neurocognitivă, necesitând evaluare imagistică și, în cazurile simptomatice, intervenție neurochirurgicală [146].

Printre factorii etiologici frecvent implicați în dezvoltarea chisturilor cerebrale se remarcă cei sociodemografici (vulnerabilitate socială, activități profesionale cu risc, stilul de viață parental vicios), printre care se evidențiază expunerea la factorii nocivi (fumat, medicație, droguri) în timpul sarcinii, în combinație cu expunerea la factori de mediu vătămător. Unele polimorfisme genetice ale genelor GATA-3 și NKX2-5 au fost anterior asociate cu riscul de apariție a acestei anomalii [50].

Chistul cerebral congenital se evidențiază la IRM ca o formațiune cu conținut lichidian omogen, având semnalul identic cu lichidul cefalorahidian (hiposemnal T1, hipersemnal T2), fără captare de contrast sau restricție de difuzie. Chistul cerebral este, de regulă, unilocular, cu pereți subțiri, fără componente solide sau septuri, cu localizări frecvente în fosa posterioară, regiunea supraselară și zonele perisilviene [146] (figura 12).

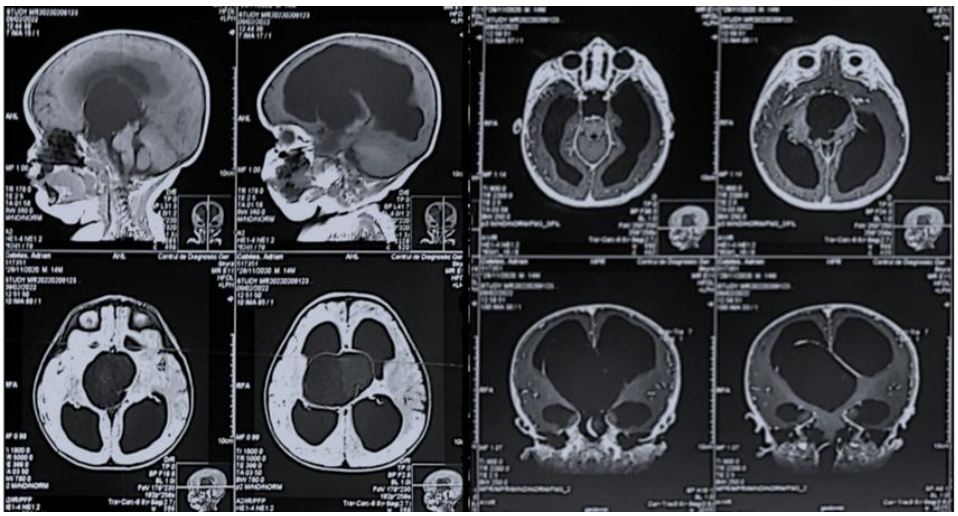


Figura 12. IRM cerebrală la copil de 3 ani: chist cerebral congenital.
Sursa: cazuistica proprie.

1.5. Măsuri populaționale și individuale în reducerea riscului de malformații congenitale ale sistemului nervos

Incidența anomaliilor congenitale ale sistemului nervos variază de la o țară la alta, în funcție de contextul regional, cu diverse influențe a multor factori – genetici, de mediu, parentali etc. [8]. Importanța studierii și identificării timpurii a factorilor etiologici se datorează frecvenței relativ mari de apariție a acestor patologii în structura morbidității la copii, precum și datelor din literatura de specialitate referitoare la eterogenitatea combinațiilor dintre factorii etiologici în diferite țări/regiuni [2,3]. Reducerea incidenței MCSN rămâne o prioritate a sănătății publice la nivel global. Măsurile profilactice eficiente sunt bazate pe diferite politici de prevenție, fiind susținute de recomandări ale organismelor internaționale precum OMS, CDC și EUROCAT [9].

Prevenirea apariției defectelor tubului neural înainte de debutul sarcinii, precum și depistarea timpurie în perioada intrauterină, duc la o îmbunătățire semnificativă a sănătății și a calității vieții atât a mamei, cât și a copilului [147]. În ultimele decenii, s-a conturat un cadru conceptual care definește o categorie specifică de malformații congenitale denumite „*folate-preventable neural tube defects* (FP-NTDs)”, adică acele anomalii a căror incidență poate fi redusă semnificativ prin aportul adecvat de acid folic în perioada periconcepțională. Această abordare nu reprezintă o clasificare clinică propriu-zisă, ci reflectă rezultatul a peste trei decenii de dovezi populaționale privind eficacitatea fortificării alimentare cu acid folic în reducerea prevalenței acestor patologii, în special a spinei bifide și a anencefaliei. Astfel, lucrările coordonate de Kancherla, Wagh și alții [148] evidențiază că în țările cu programe de fortificare obligatorie s-a redus prevalența acestor malformații. În acest context, termenii „folat-prevenibile” (engl. *folate-preventable*) sau „folat-dependente” sunt utilizați pentru a desemna o subgrupă de malformații (în special spina bifidă, anencefalia și, după unii autori, encefalocelul, agenezia corpului calos sau holoprosencefalia) care pot fi prevenite în mod eficient prin intervenții nutriționale sistemice. Termenii sunt utili pentru

evaluarea impactului măsurilor de sănătate publică, iar în lucrarea de față este utilizată abrevierea *FMCSN* (malformații congenitale ale sistemului nervos folat-dependente), cu investigarea distinctă a acestora, pe lângă grupul total de MCSN.

Spina bifidă este mai puțin frecventă în țările în care există programe de fortificare a alimentelor cu acid folic. Attah K.M. și Fiest K.M. au demonstrat că deficitul de acid folic duce nu numai la formarea spinei bifide, ci și la alte patologii ale sistemului nervos [12]. Într-un studiu realizat de H.B. Heseker et al. (2009) s-a constatat că incidența spinei bifida, encefalocelului și anencefaliei poate fi redusă semnificativ prin administrarea acidului folic în luna dinainte de concepție și în primele trei luni după concepție [149]. Metaanaliza lui V. Kancherla, K. Wagh et al. (2022) susține concluziile studiilor anterioare și demonstrează că spina bifidă, encefalocelul și anencefalia sunt anomalii severe de dezvoltare ale sistemului nervos, ce pot fi prevenite în majoritatea cazurilor prin suplimentarea pregestațională și intrauterină cu acid folic [148]. Încă din anii 1990, în domeniul sănătății publice din Statele Unite ale Americii, Canada și Marea Britanie a fost inițiată o politică națională de introducere a suplimentării cu acid folic a regimului alimentar matern încă din etapa de planificare a sarcinii, în doză de 400 μg/zi, pentru a preveni anomaliile congenitale ale tubului neural la viitorul copil [68,150,151]. Datorită implementării pe larg a metodelor de diagnosticare prenatală și a celor de prevenire eficientă (în perioadele prenatală și intrauterină), incidența anencefaliei a scăzut semnificativ în ultimii ani [1].

În China a fost realizat un studiu populațional privind impactul suplimentării cu acid folic asupra sănătății materne în cazul defectelor congenitale structurale ale tubului neural, confirmate ultrasonografic de la 20 de săptămâni de gestație (n = 170). S-a observat că aportul timpuriu de acid folic în perioada concepției a redus semnificativ riscul de hidrocefalie congenitală în nordul țării, unde deficitul matern de acid folic este predominant. Rezultatele studiului au scos în evidență rolul acidului folic în timpul concepției și în primul trimestru în prevenirea hidrocefaliei congenitale la copii [152]. Totodată, unele preparate medicamentoase pot prezenta un efect teratogen, în special antagoniștii specifici ai acidului folic (metotrexatul, acidul valproic și carbamazepina): fiind administrați în timpul sarcinii, au sporit semnificativ riscul de apariție a anomaliilor folat-prevenibile [26,27].

În 1998, Consiliul pentru Alimentație și Nutriție (*Food and Nutrition Board – FNB*) a formulat recomandări privind aportul zilnic de acid folic atât pentru nou-născuții sănătoși, care au fost alimentați natural, cât și pentru indivizii până la vârsta mai mare de 19 ani (tabelul 1) [66].

Tabelul 1. Aportul zilnic de acid folic conform recomandărilor Consiliului pentru Alimentație și Nutriție [66]

Vârstă	Bărbați	Femei	Gravide	Alăptare
Până la 6 luni	65 µg	65 µg	-	-
7–12 luni	80 µg	80 µg	-	-
1–3 ani	150 µg	150 µg	-	-
4–8 ani	200 µg	200 µg	-	-
9–13 ani	300 µg	300 µg	-	-
14–18 ani	400 µg	400 µg	600 µg	500 µg
După 19 ani	400 µg	400 µg	600 µg	500 µg

Studiile efectuate în domeniu au demonstrat că femeile cărora li se administrează acid folic cu patru săptămâni înainte de sarcină și în primele 8-12 săptămâni de sarcină, prezintă un risc redus de apariție a defectelor tubului neural la făt. Este important să luăm în considerare datele publicate în *Journal of Obstetrics and Gynaecology of Canada* (2022), în care au fost oferite recomandări pentru aderența la alimentele fortificate cu acid folic, vitamina B12 și administrarea dozei de acid folic care trebuie calculată în raport cu riscul de anomalii congenitale ale sistemului nervos [153]. Femeile din grupul cu risc scăzut sau moderat de a dezvolta anomalii congenitale ale sistemului nervos trebuie să includă în hrana lor alimente bogate în acid folic, combinate cu un aport zilnic de 400 µg de acid folic, cu 2-3 luni înainte de concepție, pe tot parcursul sarcinii și timp de 4-6 săptămâni după naștere [153]. De asemenea, au fost oferite recomandări speciale pentru femeile cu antecedente obstetricale grave, combinate cu prezența unor comorbidități, care au sporit riscul de defecte ale tubului neural la făt: diabet zaharat, antecedente genetice grave sau utilizarea anticonvulsivantelor. În aceste cazuri s-a recomandat creșterea dozei de acid folic la 500 µg/zi [68,150].

Conform datelor prezentate de Centrele pentru Controlul și Prevenirea Bolilor, în fiecare an, în întreaga lume, se nasc mai mult de 300.000 de copii cu defecte ale tubului neural. În țările cu venituri mici sau medii, introducerea obligativității consumului de alimente fortificate cu acid folic a redus semnificativ incidența defectelor de tub neural la un număr cuprins între 150.000 și 210.000 de copii pe an [154–157]. Asociația Medicală Americană și Grupul Operativ pentru Servicii Preventive din SUA (USPSTF) au elaborat, în 2023, o serie de recomandări specifice pentru prevenirea anomaliilor congenitale ale sistemului nervos. Aceste recomandări au subliniat importanța preparatelor de multivitamine, care conțin 400 µg de acid folic, în reducerea semnificativă a riscului de defecte ale tubului neural [158]. Mai mult de 60 de țări au introdus o strategie de fortificare obligatorie a alimentelor de bază cu acid folic, fapt ce reduce cu un sfert incidența tuturor defectelor de tub neural prevenibile [159]. Ca urmare a acestei inițiative, incidența anencefaliei și a despicăturilor măduvei spinale a fost redusă cu 28% anual [13].

Organizația Mondială a Sănătății a elaborat ghiduri clinice care recomandă utilizarea unei doze minime de acid folic de 400 μg pe zi pentru toate femeile de vârstă fertilă. Creșterea dozei de acid folic la 800 μg/zi este recomandată femeilor cu antecedente obstetricale grave, cu prezența în familie a unui copil cu defecte congenitale ale tubului neural de la sarcini anterioare. Femeilor care suferă de mutații ale genelor ciclului folatului, li se recomandă aceeași doză de acid folic [160]. Inițial, s-a considerat că anencefalia este rezultatul unui aport necorespunzător de acid folic în nutriția maternă [161], însă aceasta poate rezulta, de asemenea, din defecte genetice sau după expunerea mamei la substanțe toxice sau chimice [28,162].

Luând în considerare datele cercetărilor efectuate, s-a decis elaborarea unui Program național de îmbogățire a alimentelor cu acid folic, care a redus semnificativ, cu aproximativ 23,7%, riscul de apariție a DTN, cum ar fi spina bifidă și anencefalia, anomalii care fac parte din grupa defectelor de tub neural folat-dependente [26,163]. Astfel, CDC recomandă ca doza zilnică de acid folic să fie mai mare de 400 μg la femeile incluse în această categorie [66]. Autorii, de asemenea, oferă unele recomandări pentru consilierea genetică obligatorie în timpul planificării sarcinii, subliniind rolul examinării ultrasonografice a tubului neural în primul trimestru de sarcină pentru screeningul prenatal. Includerea obligatorie a alimentelor cu acid folic este o strategie utilă și sigură pentru prevenirea primară a defectelor de tub neural [164]. Strategia menționată include supravegherea de către diverși specialiști, cum ar fi neurochirurgi, neurologi, pediatri, medici de familie, geneticieni, obstetricieni, pentru a preveni apariția defectelor de tub neural la făt [165].

În baza datelor cercetărilor științifice și a experienței de implementare a programelor naționale de fortificare obligatorie a produselor alimentare cu acid folic în diferite țări, în RM au fost elaborate recomandări privind utilizarea perinatală a fierului și a acidului folic. Pe baza acestor recomandări, au fost stabilite dozele standard de acid folic pentru anumite grupuri de femei, în conformitate cu recomandările OMS. Conform Hotărârii Guvernului nr. 171 din 19.03.2012 „Cu privire la aprobarea măsurilor de reducere a morbidității cauzate de carența de fier și acid folic pentru perioada până în 2017”, operatorii din industria panificației au fost obligați să fortifice făina utilizată cu fier și cu acid folic [15]. În 2018 a apărut Ordinul Ministerului Sănătății, Muncii și Protecției Sociale al Republicii Moldova (nr. 749 din 15.06.2018) cu privire la aprobarea „Ghidului de nutriție în perioada preconcepțională, sarcină și alăptare”, ce recomandă standardele administrării acidului folic pentru femei în perioadele pre- și postconcepționale (cu 8 săptămâni înainte și 12 săptămâni după concepție): 400 μg de acid folic pe zi. Această doză este recomandată și femeilor din grupurile cu risc crescut, cum ar fi fumătoarele, cele care fac abuz de alcool și utilizatoarele obișnuite de contraceptive orale [166,167].

Studiind factorii diverși care determină dezvoltarea malformațiilor congenitale ale sistemului nervos (MCSN), constatăm necesitatea întreprinderii unor măsuri pentru reducerea

riscului dezvoltării malformațiilor la făt. Până în prezent, în RM nu a fost efectuată o amplă analiză a factorilor de risc și identificarea acestora în etiopatogeneza MCSN, începând cu cele mai timpurii stadii ontogenetice de dezvoltare [22] [30].

Astfel, o direcție de perspectivă identificată în urma analizei literaturii de specialitate a fost cercetarea caracteristicilor epidemiologice și clinice ale anomaliilor congenitale ale sistemului nervos în RM prin monitorizarea prenatală și postnatală a pacienților, pentru a fi identificați factorii de risc și pentru a elabora măsuri de prevenire a apariției acestor patologii, adaptate la specificul contextului local [3,24].

Per general, analiza literaturii de specialitate evidențiază complexitatea malformațiilor congenitale ale sistemului nervos, atât din perspectivă etiologică, cât și din perspectiva implicațiilor clinice și epidemiologice. Interacțiunea dintre factorii genetici, cum sunt mutațiile genelor implicate în metabolismul folatului, și factorii de mediu, precum carențele nutriționale sau expunerile toxice, conturează un risc semnificativ pentru dezvoltarea acestor afecțiuni. Importanța diagnosticării prenatale timpurii, a intervențiilor preventive prin suplimentarea cu acid folic și a monitorizării prin registre epidemiologice este susținută de date convingătoare. Consolidarea strategiilor de prevenție, educație și cercetare reprezintă direcții esențiale în reducerea impactului acestor malformații asupra sănătății infantile.

2. MATERIAL ȘI METODE

2.1. Designul studiului și metodologia de investigare

Studiul a fost efectuat în cadrul secțiilor de specialitate, al bazelor clinice ale Departamentului *Pediatrie*, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, în perioada 2017-2022. Pentru a realiza obiectivele prezentului studiu, a fost prestabilit un design dual, cu realizarea unui studiu retrospectiv (în baza datelor din registrele dedicate) și a unui studiu observațional, analitic și caz-control. Studiul a primit un aviz favorabil (nr. 83) din partea Comitetului de Etică a Cercetării al IP USMF „Nicolae Testemițanu”, în cadrul ședinței din data de 24 ianuarie 2022.

Pentru realizarea studiului retrospectiv, au fost colectate datele din Registrul Național al Malformațiilor Congenitale din RM (în perioada 2018-2023), cu investigarea structurii și a frecvenței diferitelor tipuri de MCSN în populația pediatrică din RM. Datele au fost colectate din Laboratorul de profilaxie a patologiilor ereditare al IMSP Institutul Mamei și Copilului. Datele din perioada 2018-2021 din Registrul Național au fost comparate cu cele din perioadele similare din EUROCAT, selecția perioadei de investigație bazându-se pe disponibilitatea completă a datelor în baza de date europeană în momentul colectării. Astfel, s-a evaluat frecvența diferitelor MCSN în populația pediatrică a RM cu cea din țările europene (membre EUROCAT). Accesul la datele EUROCAT s-a realizat prin intermediul accesării autorizate a platformei web (https://eu-rd-platform.jrc.ec.europa.eu/eurocat_en), cu selecția datelor conform obiectivelor de studiu [40].

Pentru studiul caz-control combinat, a fost elaborat un design care să investigheze două loturi (de bază – copii cu MCSN, de control – nou-născuți vii fără MCSN), inclusiv cu evaluarea genetică direcționată a mamelor acestora. *Criteriile de includere* au fost următoarele: copii cu vârsta de la 0 până la 18 ani cu MCSN izolate (poligenice); nou-născuți vii, fără MCSN (lotul de control); mamele copiilor studiați (colectarea probelor biologice); semnarea de către părinți a acordului informat. *Criteriile de excludere* au fost: copii cu sindroame monogenice; copii cu anomalii cromozomiale; copii cu boli mitocondriale; lipsa acordului informat al participanților. Consimțământul informat a fost semnat de fiecare participant până la includerea lui în studiu. În prealabil, s-a realizat informarea privind scopul, modul de participare și de efectuare a studiului, beneficiile, dezavantajele și riscurile posibile ale participării. Designul detaliat al studiului este prezentat în figura 13.

Dimensiunea eșantionului pentru studiul caz-control a fost calculată în baza formulei standard (formula 1) pentru studiile de tip caz-control:

$$n = \frac{2\left(Z_\alpha + Z_\beta\right)^2 \times P(1-P)}{\left(P_0 - P_1\right)^2} \qquad (1)$$

unde:

P_0 – copii cu malformații congenitale ale sistemului nervos. Conform datelor din literatura de specialitate, prevalența copiilor cu MCSN este de 1,92 la 1000 de nou-născuți, în medie 10% (P_0 = 0,1) [38];

P_1 – nou-născuți vii fără anomalii congenitale ale sistemului nervos. Presupunem că în lotul de cercetare valoarea va fi de 40% (P_1 = 0,4), atunci: $P = (P_0 + P_1)/2 = 0,25$;

Z_α – valoarea tabelară. Pentru semnificație statistică a rezultatelor de 95%, coeficientul $Z_\alpha = 1,96$;

Z_β – valoarea tabelară. Pentru puterea statistică a comparației de 90%, coeficientul $Z_\beta = 1,28$.

Introducând datele în formulă, am obținut:

$$\frac{2(1,96 + 1,28)^2 \times 0,25 \times 0,75}{(0,1 - 0,4)^2} = 43,74$$

Astfel, loturile de studiu trebuiau să conțină minim 44 de subiecți. La demararea înrolării, s-a prestabilit un număr de 70 de subiecți per lot, care să respecte cerințele pentru dimensiunea minimă a loturilor și să permită realizarea procesării statistice. Majoritatea indicilor colectați de la subiecți au fost de natură categorială, impunând realizarea testelor statistice din familia chi-pătrat (χ^2). Astfel, în software-ul G*Power (3.1.9.7, HHU, Germania), s-a ajustat numărul de subiecți în urma testării cu opțiunea *χ^2 tests – Goodness-of-fit tests: Contingency tabels*, cu următorii parametri de calcul: *effect size w* (0,4), *α err prob* (0,05), puterea statistică (0,80), obținând o dimensiune a lotului de 50 de subiecți (pentru gl = 1) și de 61 de subiecți (gl = 2). Adăugând rata de nonrăspuns (10%), obținem o dimensiune minimă per lot de 67 de persoane. Astfel, eșantionul total va fi reprezentat de 140 de subiecți (copii/mame) în două loturi egale ca dimensiune: lotul de studiu (n = 70) și lotul de control (n = 70).

Dimensiunea eșantionului a fost, de asemenea, verificată prin intermediul programului specializat Quanto v. 1.2.4 (University of South California, SUA) [168]. Estimarea numărului de perechi caz-control necesare pentru a studia asocierea dintre genele testate la mamele copiilor (*MTFHR677*, *MTFHR1298*, *MTR2756*, *MTRR66*) și MCSN a fost realizată în baza următorilor parametri:

- Prevalența maladiei în populația pediatrică (*Kp*) din Republica Moldova este echivalentă cu 0,00117% (conform datelor EUROCAT).
- Polimorfismul genelor ciclului folaților (*MTFHR677*, *MTFHR1298*, *MTR2756*, *MTRR66*), în baza datelor din literatura de specialitate, se presupune a fi asociat cu MCSN. Astfel, au fost extrase din studii precedente datele privind proporția în populația Republicii Moldova a alelei T pentru gena *MTFHR677* (31,5%), a alelei C pentru gena *MTFHR1298* (34,5%), a alelei G pentru gena *MTR2756* (26,1%) și a alelei G pentru gena *MTRR66* (32,1%) [25,169].
- Modelul de moștenire studiat va fi cel multiplicativ (*log-additive*).
- S-a presupus că riscul de dezvoltare a MCSN pentru copiii ale căror mame sunt purtătoare de

alelele menționate va fi cel puțin egal cu 2 (*Rg*).

- Puterea statistică a studiului trebuie să fie de cel puțin 80%, iar nivelul stabilit de semnificație este egal cu 0,05 (unidirecțională).

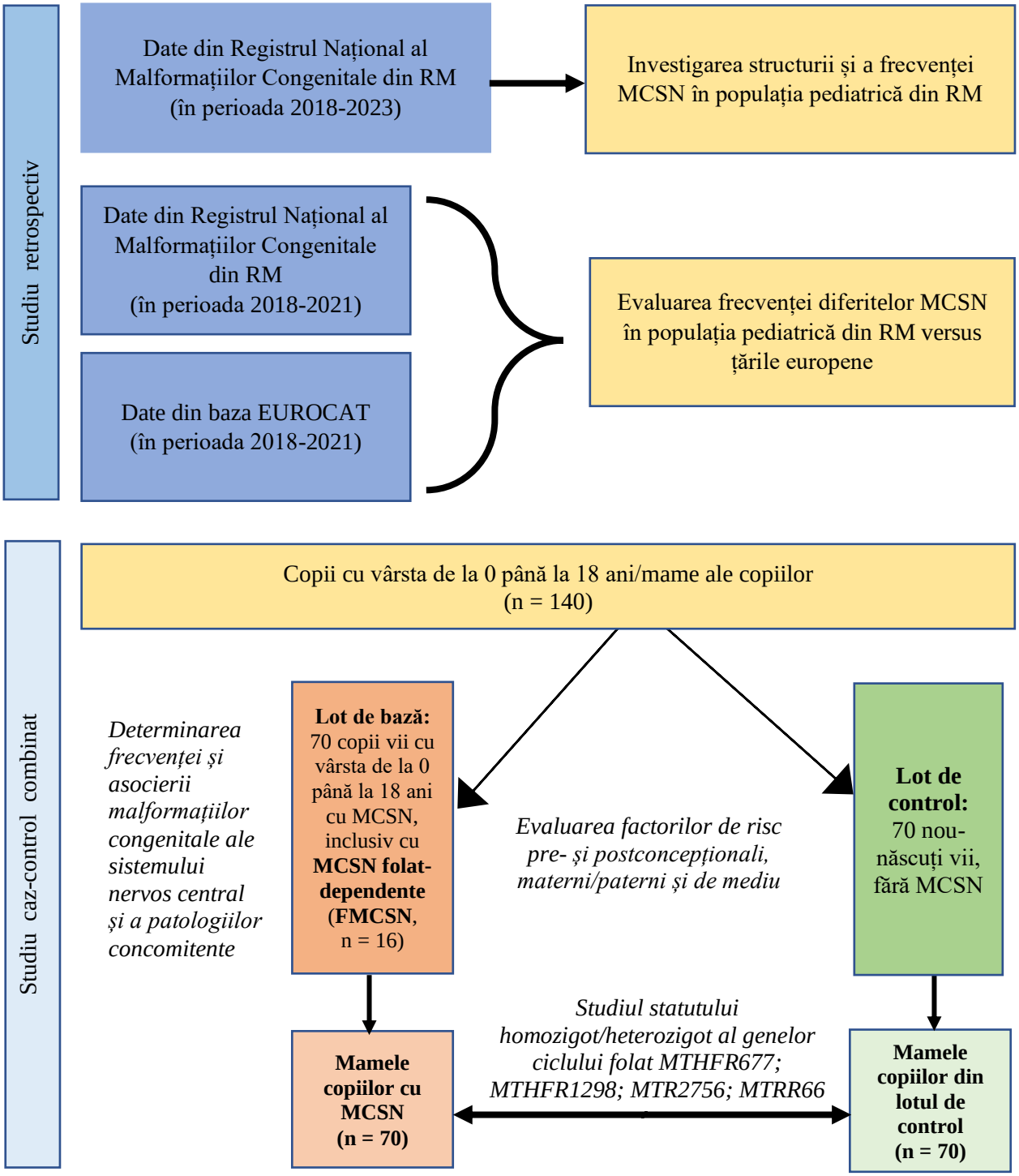


Figura 13. Designul studiului

Calculele realizate în programul respectiv au relevat următoarele dimensiuni ale eșantioanelor perechi (anexa 1): pentru *MTFHR677* – 57 de perechi; pentru *MTFHR1298* – 56 de perechi; pentru *MTR2756* – 61 de perechi; pentru *MTRR66* – 57 de perechi. Astfel, verificarea a relevat că eșantionarea inițială pentru studiul caz-control este validă pentru efectuarea acestor teste

genetice la mamele copiilor cu MCSN (n = 70) versus mamele celor fără MCSN (lotul de control, n = 70) (anexa 1).

Copiii cu MCSN au fost recrutați dintre copiii cu acest diagnostic, internați în Centrul neonatal-pediatric al IMSP Spitalul Clinic Municipal „Gheorghe Paladi" (secțiile *Patologia nou-născuților*; *Neurologie copii*), din Clinica de pediatrie a IMSP Institutul Mamei și Copilului (secțiile *Neurologie vârsta fragedă*; *Neurologie*) și din Centrul Național Științifico-Practic de Chirurgie Pediatrică „Natalia Gheorghiu" (subdiviziunile *Neurochirurgie*; *Chirurgie nou-născuți*). Conform obiectivelor studiului, au fost investigate particularitățile diferiților indicatori în subgrupul de copii cu forme *folat-prevenibile de MCSN* (FMCSN, n = 16, constând din copii cu diagnostic de *spină bifidă* și *encefalocel*). Copiii din lotul de control au fost recrutați dintre nou-născuții din Centrul perinatal de nivelul III, IMSP Institutul Mamei și Copilului (secțiile *Obstetrică nr. 1*; *Obstetrică nr. 2*).

Pentru realizarea obiectivelor studiului, au fost compilate două fișe de evaluare (clinico-anamnestică și de evaluare neurologică), prin care s-au colectat datele privind factorii de risc, anamneza vieții, anamneza bolii, tabloul clinic/paraclinic și datele de evaluare neurologică (anexele 2-3). Raționamentul de investigare s-a bazat pe studii cu design similar realizate în diferite regiuni/țări (Bulgaria, Ucraina, Turcia, Tunisia, China), cu scop de apreciere a particularităților locale asociate cu apariția MCSN [50,67,170].

Prin prima fișă de evaluare se colectau următoarelor date: anamnestice și clinice prin intervievare standardizată; statutul obiectiv al copiilor; datele antropometrice, vârsta de gestație și starea nou-născutului (scorul APGAR – *Appearance, Pulse, Grimace, Activity, Respiration*); antecedentele familiale; evaluarea stării de sănătate a părinților (factorii de risc prenatali și intrauterini); anamneza obstetrico-ginecologică; rezultatele examenului de laborator și celui instrumental. A doua fișă conținea date despre: datele generale despre copil; examenul obiectiv; evaluarea statutului neurologic; examenul paraclinic. Selecția indicilor explorați s-a bazat pe sinteza principalilor factori din literatura de specialitate, în baza studiilor [17,50,67,131,171]. De asemenea, pentru completarea fișelor s-au extras datele corespunzătoare din documentația medicală: fișa nou-născutului, fișa de observație a copilului (formular 003/e) și fișa medicală de ambulatoriu (F025/e). A fost efectuată examinarea complexă a copilului cu diagnostic de MCSN și a nou-născutului fără MCSN, care a inclus examenul clinic și cel paraclinic (la necesitate). A fost utilizat și sistemul informațional de date medicale *SIAAMS* din cadrul IMSP Institutul Mamei și Copilului.

Examinarea clinică și culegerea datelor anamnestice au fost efectuate prin interviul standard și au inclus: distribuția demografică, statutul social, datele antropometrice (înălțimea în cm și greutatea în kg), anamneza vieții și a bolii, antecedentele familiale. Analiza factorilor de risc la

părinți a permis colectarea următoarelor informații: vârsta la momentul conceperii copilului, patologiile cronice, fumatul, consumul de alcool, prezența factorilor nocivi la locul de muncă, infecțiile TORCH etc. Anamneza obstetricală s-a axat pe datele privind profilaxia primară cu acid folic, sarcinile stagnate, numărul de avorturi spontane, evoluția sarcinii anterioare și complicațiile apărute, prezența în familia copilului a diagnosticului de MCSN. După ce a fost determinat statutul obiectiv general al pacienților incluși în studiu, cu aprecierea datelor antropometrice, a rezultatelor examenului neurologic al pacienților din ambele loturi de studiu, a fost apreciată starea nou-născutului la naștere după scorul APGAR. Indicele nutrițional a fost calculat în baza parametrilor de masă corporală (IMC), care reprezintă raportul dintre greutate (kg) și înălțimea la pătrat (m^2). Masa corporală a copilului a fost măsurată prin cântărire cu un cântar standardizat, iar înălțimea – cu stadiometrul orizontal și vertical, în conformitate cu normele de antropometrie pediatrică pentru fiecare copil luat în studiu.

De asemenea, s-au colectat o serie de date clinice și paraclinice din fișele copiilor (după necesitățile de diagnostic la cei cu MCSN). Caracterizarea MCSN a cuprins consemnarea simptomelor neurologice, a prezenței bolilor somatice concomitente ca urmare a complicațiilor și malformațiilor congenitale ale sistemului nervos la copii. Examinarea paraclinică a copiilor cu MCSN internați s-a realizat, la necesitatea clinică, prin analize de laborator (analiza generală și biochimică a sângelui), precum și prin studiu imagistic (evaluarea parametrilor ultrasonografici cerebrali, tomografia computerizată, rezonanța magnetică cerebrală). Investigațiile s-au bazat pe respectarea *Protocoalelor clinice naționale standardizate*. Testele de laborator au fost efectuate în laboratorul clinic al IMSP Institutul Mamei și Copilului. Pregătirea pacientului, prelevarea probei primare și transportarea probei în laborator s-a efectuat conform *Ghidului de prelevare a probelor primare pentru investigații de laborator clinico-hematologice, biochimice, hormonal-enzimologice, imunologice, bacteriologice*. Recoltarea probelor de sânge a fost efectuată dimineața, pe nemâncate, prin intermediul analizatorului XN1000 (Sysmex, Japonia), pentru hemoleucogramă prin metodele citometriei în flux de fluorescență și impedanță hidrodinamică. Examenul biochimic sanguin a fost realizat cu analizatorul Cobas C311 (Roche, Elveția) prin metoda kinetică standardizată IFCC, fără piridoxal fosfat, și prin metoda fotometrică.

Metode imagistice. ***Ultrasonografia cerebrală***. Explorarea ultrasonografică cerebrală la copii a fost efectuată cu dispozitivul Aplio 300 (Toshiba, Japonia) din cadrul departamentului *Diagnostic funcțional* al IMSP Institutul Mamei și Copilului, conform cerințelor în vigoare de supraveghere a pacienților. Aceasta este o metodă de diagnosticare funcțională, noninvazivă, care la momentul actual este disponibilă în toate instituțiile și centrele medicale. Examenul ultrasonografic se consideră primul pas în studiul imagistic efectuat la copiii cu suspiciune de patologii malformative. Ultrosonografia cerebrală a fost realizată conform protocolului

instituțional pentru investigații funcționale. Procesul de examinare a fost efectuat în regim *B-regnum*, cu instalarea în „fereastra acustică” a transductorului orientat în planul de scanare axial. Această incidență produce ultrasonografii cerebrale în secțiune transversală. Evaluarea în proiecție axială a fost realizată cu deplasarea unghiului de scanare de la bază spre calota craniană, transductorul fiind rotit cu 90 de grade, fapt ce a făcut posibilă efectuarea USG în proiecție coronară, cu o schimbare a unghiului de scanare în direcția de la lobi către occipital.

Tomografia computerizată (TC) și IRM cerebrală. Pentru confirmarea diagnosticului de MCSN, a fost efectuată, după indicații, scanarea tomografică computerizată și IRM cerebrală. Examenul imagistic a fost efectuat cu respectarea cerințelor în vigoare și a regulilor protocolului standard pentru procedurile operaționale la copii. Majoritatea examinărilor au fost realizate în secția *Radiologie și imagistică* din cadrul IMSP Institutul Mamei și Copilului, folosind următoarele tipuri de tomografe: Aquilion Prime 80 Slice (Toshiba, Japonia), cu doza efectivă de 621,4 mG/cm^2; IRM cerebrală (în cazuri unice) – cu aparatul Magnetom Skyra 3T (Siemens, Germania), fapt care a permis o diagnosticare mai extinsă, investigații de o performanță înaltă, precizie maximă și diagnosticarea timpurie a malformațiilor de dimensiuni mici la copii, precum și a unui șir lung de alte patologii ale sistemului nervos. Investigațiile au fost efectuate la *Centrul de Diagnostic German, Excellence* și în alte centre medicale cu dispozitivele Aquilion Prime TSX-303A/AC (Toshiba, Japonia) și Somatom 16 (Siemens, Germania).

În cadrul studiului, la mamele copiilor cu MCSN (n = 70), precum și la mamele copiilor din lotul de control (n = 70), au fost investigate polimorfismele genetice ale genelor ciclului folatului (*MTHFR677*, *MTHFR1298*, *MTR2756*, *MTRR66*). Pentru aceasta a fost elaborat un formular suplimentar de consimțământ informat, care a fost aprobat și semnat. Investigația a fost efectuată prin testarea molecular-genetică prin reacția de polimerizare în lanț (PCR) în cadrul Laboratorului medical *Invitro Diagnostics*, costurile fiind acoperite prin programul de doctorat. Analizele molecular-genetice au fost realizate cu respectarea protocolului PCR în timp real (RT-PCR). Sângele integral periferic a fost recoltat în tuburi de plastic Vacuette, cu un volum de 4,0 ml, în calitate de anticoagulant fiind utilizat K_3EDTA. Ulterior s-a realizat depozitarea și transportarea materialului colectat în tuburi marcate individual, la o temperatură de 2-8°C, într-un interval de 24 de ore din momentul colectării.

Etapele analizei RT-PCR au respectat cerințele protocolului standardizat: (1) extragerea ADN-ului din sânge, (2) pentru fiecare polimorfism, a fost efectuată etichetarea tuburilor pentru fiecare probă de test și de control negativ „K-”, cu volum de 0,2 ml; (3) tuburile cu amestec de amplificare au fost agitate timp de 3-5 secunde și centrifugate timp de 3-5 sec. în microcentrifuga Vortex; (4) tuburile etichetate au fost distribuite în câte 20 µl din amestecul de amplificare corespunzător; (5) tuburile cu mix-ul de reactie au fost agitate timp de 3-5 sec. și centrifugate timp

de 1–3 sec. în microcentrifuga Vortex; (6) tuburile au fost instalate în blocul amplificatorului DT-Prime 5M1.

Pentru analiza reacției de polimerizare în lanț în timp real, au fost utilizate următoarele echipamente: amplificator DTprime 5M1 (ООО *ДНК-Технология*, Federația Rusă); reactive: (a) setul *Проба-Рапид-Генетика* pentru extractia ADN-ului genomic (ООО *ДНК-Технология*, Federația Rusă); (b) setul *Генетика Метаболизма Фолатов* pentru amplificarea si detectia polimorfismelor (ООО *ДНК-Технология*, Federația Rusă).

Metoda de genotipare utilizată în cadrul acestui studiu a fost reacția de polimerizare în lanț în timp real (Real-Time PCR), realizată cu ajutorul setului comercial „Генетика Метаболизма Фолатов" (ООО „ДНК-Технология"), proiectat pentru identificarea polimorfismelor *MTHFR677C>T, MTHFR1298A>C, MTR2756A>G* și *MTRR66A>G*. Metoda aplicată reprezintă o tehnică de Real-Time PCR hibridă, cu discriminare alelică bazată atât pe emisia fluorescentă selectivă, cât și pe diferențele de temperatură de topire (HRM-High-Resolution Melting). Principiul de funcționare al metodei se bazează pe amplificarea competitivă a regiunilor ce conțin SNP-urile investigate, fiecare amestec de reacție incluzând primeri specifici, molecule fluorescente și un sistem intern de control al ADN-ului uman genomic (VK), care permite evaluarea prezenței și calității ADN-ului în fiecare probă. Secvențele exacte ale primerilor nu sunt disponibile publicului, deoarece fac parte din formula proprietară a kitului comercial; totuși, acestea sunt preoptimizate pentru reacții multiplexate și sunt livrate sub formă de amestec gata de utilizare, ceea ce asigură reproductibilitatea reacției și evitarea variațiilor inter-laboratoare.

Protocolul de amplificare a urmat strict programul recomandat de producător pentru amplificatoarele DTlite, DTprime sau DT-96, incluzând o etapă inițială de denaturare și activare enzimatică (80°C timp de 2 minute, urmată de 94°C timp de 5 minute), cinci cicluri de pre-amplificare la 94°C, 67°C și 72°C, respectiv 45 de cicluri de amplificare completă cu citirea fluorescenței în timp real pe toate canalele de detecție. Ulterior amplificării, aparatul a executat o curba de topire în trepte de 1°C, până la atingerea temperaturii finale de 75°C, etapă indispensabilă pentru discriminarea genotipurilor, deoarece permite analiza fină a temperaturilor de topire ale fragmentelor amplificate și detectarea eventualelor variații ale secvențelor.

Discriminarea alelică a fost realizată printr-o combinație între detecția fluorescentă și profilul de topire. Fiecare alelă este identificată printr-un fluorofor specific, conform schemei interne a kitului: FAM și HEX sunt utilizate pentru diferențierea alelelor alternative (de exemplu, C și T în cazul MTHFR677C>T), în timp ce ROX, Cy5 și Cy5.5 sunt folosite pentru alte polimorfisme sau pentru monitorizarea controlului intern. Semnalul fluorescent acumulat în timpul reacției indică prezența unei anumite alele, iar analiza ulterioară a curbei de topire confirmă natura produsului amplificat prin compararea temperaturii de topire (Tm) cu valorile standard obținute

pentru controlul homozigot comun, controlul homozigot rar și heterozigoți. Software-ul amplificatorului, integrând simultan aceste două seturi de informații, atribuie automat fiecărei probe genotipul final (CC, CT, TT etc.), ceea ce minimizează erorile de interpretare și maximizează acuratețea. Procedura combinată conferă tehnicii o sensibilitate și o specificitate înalte (~100%) pentru toate tipurile de biomaterial investigate, fapt confirmat în caracteristicile analitice ale kitului. Astfel, metoda aplicată asigură un înalt grad de fidelitate sau precizie în identificarea polimorfismelor SNP implicate în metabolismul folatului, fiind una adecvată atât pentru studii populaționale, cât și pentru investigații clinice.

2.2. Prelucrarea statistică a datelor

Datele au fost colectate într-o bază de date tabelară, utilizând Microsoft Excel 2021 (*Microsoft, SUA*). Pentru analiza statistică primară (statistica descriptivă) post-colectare date, au fost utilizat pachetul software SPSS v.27 (versiune trial, *IBM Corp., Armonk, NY*). Pentru procesarea statistică finală a datelor a fost utilizat software-ul R-Studio v.2023.12.1 Build 402 (*Posit Software, SUA*). Statistica descriptivă a fost utilizată, de asemenea, pentru a prezenta variabilele demografice și clinice, cu raportarea frecvențelor absolute și a celor relative (%) pentru variabilele categoriale, iar pentru cele continue – valorile medii, deviațiile standard, valorile minime și cele maxime (inclusiv evaluarea normalității distribuției – testul Shapiro-Wilk). Testul χ^2 a fost utilizat pentru a compara frecvențele variabilelor categoriale între diferite grupuri (de ex., *MCSN* versus *control*). Totuși, având în vedere distribuția neuniformă a unor variabile și frecvențele reduse în anumite categorii (în special în subanalize sau subgrupuri), pot apărea tabele cu celule rare și efective așteptate mici, situații în care aplicarea neajustată a χ^2 poate conduce la estimări instabile ale valorii p. În aceste condiții, s-au aplicat metode ajustate sau adaptate situațiilor (conforme cu recomandările de prelucrare statistică), precum corecția de continuitate după Yates pentru tabele 2×2 și testarea prin simulare Monte Carlo (10.000 de iterații) pentru obținerea unei aproximări mai fiabile a semnificației statistice atunci când condițiile de aplicare ale χ^2 standard nu au fost îndeplinite (sub-loturi cu dimensiune reduse). Rezultatele obținute la aplicarea simulării Monte-Carlo oferă potențiale căi de studiu, ce necesită re-evaluare pe loturi mai mari, și nu au fost interpretate ca fiind deterministice. De asemenea, coeficientul V (Cramer) a fost calculat pentru a exprima mărimea efectului și relevanța practică a asocierilor, independent de dimensiunea eșantionului.

Pentru analiza tendințelor temporale ale incidenței MCSN, au fost utilizate modele de regresie Poisson, fiecare subtip fiind evaluat individual cu anul ca predictor continuu, pentru a identifica tendințele semnificative de creștere sau de scădere. Ulterior, un model Poisson generalizat (GLM), cu interacțiune între an și subtip, a permis testarea diferențelor de evoluție între tipurile de malformații.

Pentru variabilele continue care nu respectă distribuția normală, s-a utilizat testul Wilcoxon în scopul comparațiilor dintre două grupuri independente (cu ajustări după Holm). Calculul raportului șanselor (OR) a fost aplicat ca metodă pentru a evalua asocierea dintre expunerea la anumiți factori de risc și prezența/absența malformațiilor congenitale. S-au raportat intervalele de încredere de 95% ($IÎ_{95\%}$) și semnificația statistică (*p*). A fost utilizată corelația Spearman, cu calculul coeficienților de corelație (*rho*) și raportarea nivelului de semnificație (*p*) a asocierii. Analiza componentelor principale (PCA) a fost folosită ca tehnică statistică de reducere a dimensionalității datelor (*dimensionality reduction*) cu scopul de a identifica tipare de asociere între variabilele studiate, cu raportarea tendințelor de coasociere (în baza vectorilor *eigen*).

Datele genetice au fost analizate tabelar, cu evaluarea unei serii de modele, conform tendințelor actuale metodologice de cercetare în domeniu. Statistic, s-a aplicat testul chi-pătrat (χ^2) cu raportarea valorii testului, probabilității (p) și raportul șanselor (OR), cu intervalele de încredere de 95% ($IÎ_{95\%}$). Au fost evaluate următoarele modele de moștenire: *modelul multiplicativ de moștenire* (investigarea multiplicării frecvenței alelelor în funcție de grup); *modelul general de moștenire* (aprecierea diferențelor de distribuție a genotipurilor între grupuri); *modelul aditiv de moștenire* (determinarea existenței unei tendințe liniare între frecvențele genotipurilor în raport cu prezența/absența evenimentului-testul Cochran-Armitage); *modelul dominant de moștenire* (evaluează dacă prezența unei anumite alele este asociată cu evenimentul, comparativ cu genotipul homozigot); *modelul recesiv de moștenire* (evaluează dacă prezența genotipului homozigot este asociată cu evenimentul, comparativ cu alte genotipuri). Pentru verificarea validității testării genetice, a fost utilizat testul de echilibru Hardy-Weinberg (*HWE Test*).

Pentru evaluarea asocierii dintre diverși factori de risc și prezența malformațiilor congenitale ale sistemului nervos (MCSN), respectiv a subgrupului de malformații folat-dependente (FMCSN), a fost calculat *riscul relativ* (raportul dintre incidența expunerii în grupul cu MCSN/FMCSN și incidența în grupul de control), *riscul atribuibil* (proporția din cazurile din rândul expușilor care pot fi atribuite direct acelui factor), precum și coeficientul PAF (proporția atribuibilă factorului de risc în populație, conform metodei după Bruzzi). În caz că celulele din tabelele de contingență prezentau valoarea 0, s-au realizat calcule adiționale prin ajustarea după metoda Haldane-Anscomble (adăugarea +0,5). Un RR >1 indică o asociere pozitivă cu riscul de MCSN/FMCSN, în timp ce un RR <1 sugerează un posibil efect protector. Analizele au fost efectuate separat pentru comparațiile *Control vs MCSN* și *Control vs FMCSN*. Intervalele de încredere s-au calculat pentru cota șanselor (OR) prin intermediul metodei logaritmice după Wald, iar pentru riscul relativ - conform metodei logaritmice după Katz. Rezultatele prelucrării statistice a datelor au fost prezentate în tabele și grafice, cu evidențierea valorilor mai mari la nivel de subgrupuri și a probabilităților statistic semnificative.

Limitările metodologice ale studiului efectuat

În desfășurarea prezentului studiu au fost întâmpinate anumite limitări metodologice, determinate în principal de contextul epidemiologic specific Republicii Moldova. În primul rând, incidența scăzută a malformațiilor congenitale ale sistemului nervos în populația generală a determinat numărul relativ mic de cazuri disponibile pentru analiza epidemiologică, genetică și clinică, ceea ce a restricționat aplicarea unor modele statistice multivariate complexe. Dimensiunea eșantionului a influențat alegerea strategiilor analitice, impunând utilizarea unor modele cu un număr redus de variabile, pentru a evita supraajustarea sau instabilitatea estimărilor.

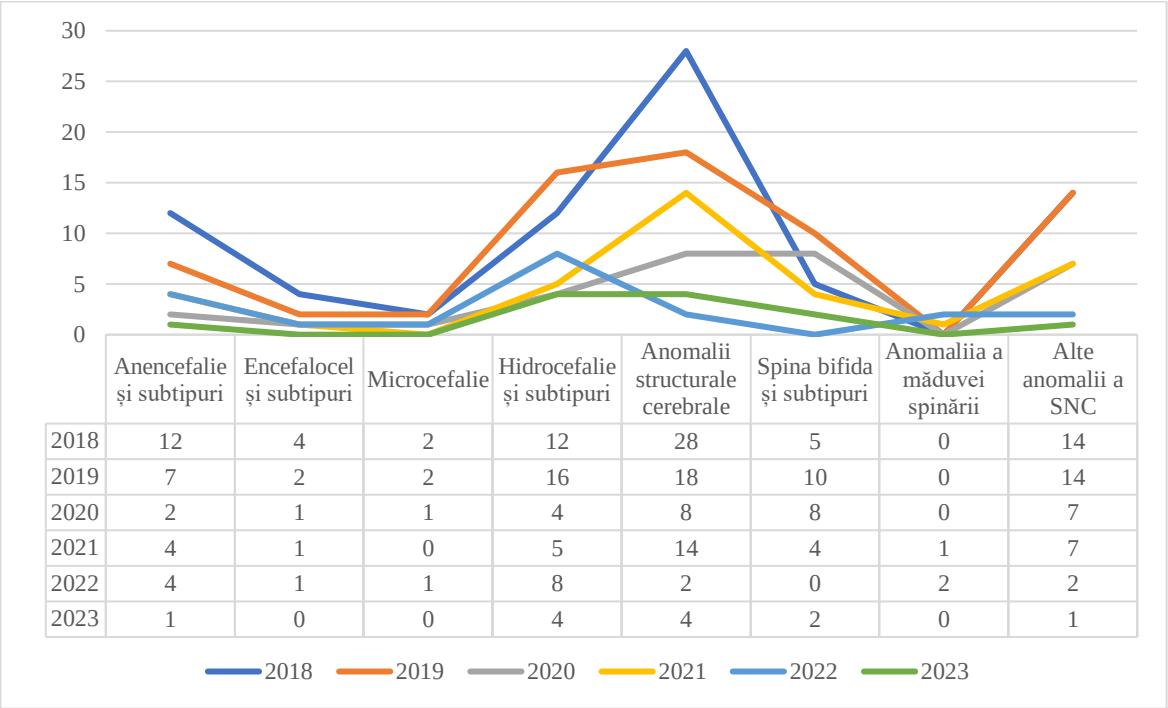
Dat fiind că examinarea clinică s-a realizat după necesitățile cazului, datele colectate au fost incomplete pentru a putea fi supuse evaluării statistice, dar au servit în conduita clinică per caz.

Designul de tip caz-control retrospectiv a generat riscul apariției *bias*-ului de memorie (*recall bias*), în special în colectarea datelor privind expunerile periconcepționale. Pentru unele variabile de interes, cum ar fi utilizarea medicamentelor contraindicate în sarcină sau consumul de alcool, nu se poate exclude posibilitatea unui *bias* de dezirabilitate socială din partea respondenților. O altă limitare derivă din neacoperirea completă a tuturor factorilor de risc relevanți, astfel, deși au fost colectate date despre principalii factori de mediu, comportamentali și medicali, nu toate variabilele cu potențial teratogen au fost incluse sau detaliate suficient (de ex., dieta completă, stresul matern, nivelul de activitate fizică, poluanții minori). De asemenea, lipsa datelor privind genotipul fetal a limitat evaluarea diferențiată a efectelor directe versus cele indirecte în analiza corelațiilor genetice. Diversitatea modelelor metodologice din studiile existente în literatura de specialitate, precum și diferențele de frecvență ale polimorfismelor genetice între diverse populații, au redus posibilitatea de comparare extinsă între rezultatele obținute local și cele internaționale. De asemenea, resursele disponibile au limitat posibilitatea realizării unui design prospectiv, precum și implementarea unor analize avansate de interacțiune gen-mediu sau modele poligenice. Aceste limitări au fost luate în considerare în interpretarea rezultatelor, iar concluziile formulate sunt adaptate datelor disponibile.

3. ASPECTE EPIDEMIOLOGICE, PERICONCEPȚIONALE ȘI CLINICE ALE MALFORMAȚIILOR CONGENITALE ALE SISTEMULUI NERVOS LA COPIII DIN REPUBLICA MOLDOVA

3.1. Distribuția malformațiilor congenitale ale sistemului nervos în Republica Moldova: tendințe naționale și comparații cu datele internaționale

Studierea frecvenței MCSN a fost posibilă prin analiza cazurilor de MCSN din anii 2018-2023 din *Registrul Național al Maladiilor Congenitale* din RM (figura 14).



	Anencefalie și subtipuri	Encefalocel și subtipuri	Microcefalie	Hidrocefalie și subtipuri	Anomalii structurale cerebrale	Spina bifida și subtipuri	Anomaliia a măduvei spinării	Alte anomalii a SNC
2018	12	4	2	12	28	5	0	14
2019	7	2	2	16	18	10	0	14
2020	2	1	1	4	8	8	0	7
2021	4	1	0	5	14	4	1	7
2022	4	1	1	8	2	0	2	2
2023	1	0	0	4	4	2	0	1

Figura 14. Evoluția anuală a frecvenței MCSN (anii 2018-2023)

Astfel, analiza distribuției cazurilor de malformații congenitale ale sistemului nervos raportate în RM, în anii 2018-2023, a evidențiat că în perioada analizată numărul total de cazuri de MCSN a fost de 245, dintre care 68 de tip anomalii folat-prevenibile (27,75%). Numărul total de cazuri a prezentat variații anuale semnificative: 2018 -77 de cazuri; 2019 - 69 de cazuri; 2020 - 31 de cazuri; 2021 - 36 de cazuri; 2022 - 20 de cazuri; 2023 - 12 cazuri, conturând o tendință generală descrescătoare pe parcursul intervalului analizat. O evoluție similară s-a observat și în ceea ce privește anomaliile prevenibile prin folat, cu valori absolute în scădere: 2018 - 21 de cazuri; 2019 - 19; 2020 - 11; 2021 - 9; 2022 - 5; 2023 - 3 cazuri, posibil datorate eficienței crescute a măsurilor de prevenire primară. Ponderea anomaliilor folat-prevenibile în totalul cazurilor de MCSN raportate anual s-a menținut relativ constantă - în jurul valorii de 25%, cu mici variații: 2018 - 27,27%; 2019 - 27,53%; 2020 - 35,48%; 2021 - 25%; 2022 - 25%; 2023 - 25%.

Astfel, se remarcă un nivel relativ stabil al contribuției acestor anomalii la morbiditatea globală MCSN, cu o creștere atestată în anul 2020, posibil influențată de factori epidemiologici (COVID-19) sau de raportare. Ulterior a fost analizată distribuția cazurilor de MCSN pe ani și în grupul total (figurile 15-16).

Figura 15. Structura procentuală a malformațiilor congenitale ale sistemului nervos central în perioada 2018-2023

Evaluarea distribuției diferitelor subtipuri de MCSN per an a relevat o neuniformitate a cazurilor. Astfel, în 2018 se atestă o distribuție semnificativ dezechilibrată, unele subtipuri fiind mult mai frecvente (χ^2 = 42,36; gl = 6; p = 1,56e-07). În 2019 se atestă diferențe semnificative între subtipuri și se menține un profil dezechilibrat similar cu anul anterior (χ^2 = 25,65; gl = 6; p = 2,58e-04). În 2020 se observă diferențe semnificative între subtipuri, dar mai atenuate față de anii anteriori (χ^2 = 13,94; gl = 6; p = 0,030). În 2021 se atestă o distribuție internă semnificativ dezechilibrată (χ^2 = 23,11; gl = 6; p = 7,60e-04). În anul 2022 se menține o diferență semnificativă între frecvențele subtipurilor de MCSN (χ^2 = 17,60; gl = 7; p = 0,0139). În 2023 nu s-a observat nicio diferență semnificativă, distribuția fiind relativ uniformă între subtipuri (χ^2 = 3,83; gl = 4; p = 0,429).

Distribuția totală a cazurilor de MCSN pe subtipuri, cumulată în perioada 2018-2023, a fost analizată utilizând testul χ^2 (chi-pătrat). Rezultatul testului a fost extrem de semnificativ statistic (χ^2 = 139,29; gl = 7; p = 2,2e-16), demonstrând că unele subtipuri de MCSN au fost raportate mult mai frecvent decât altele, astfel distribuția cazurilor nu este aleatorie.

Per ansamblu, pentru anii 2018-2022 s-a observat un model constant de distribuție dezechilibrată a subtipurilor MCSN, reflectând posibil predominanța unor maladii specifice (precum anomaliile structurale cerebrale sau hidrocefalia).

Spre deosebire de anii anteriori, în 2023, distribuția cazurilor a fost relativ omogenă între subtipuri, posibil ca urmare a numărului total redus de cazuri raportate (n = 12) sau a unei distribuții mai uniforme în practica clinică și în raportare.

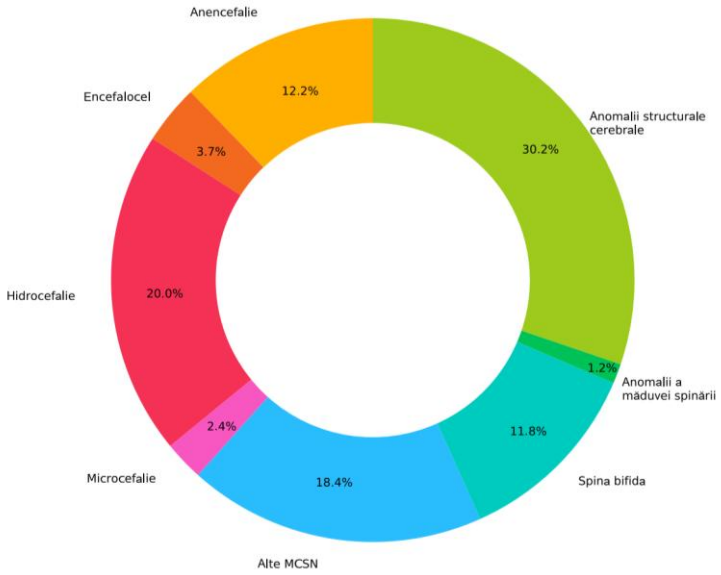


Figura 16. Structura procentuală cumulativă a MCSN în perioada 2018-2023

Per ani, s-au observat următoarele frecvențe ale subtipurilor de MCSN (aranjate ierarhic, în ordine descrescătoare):

• anul 2018 - *anomalii structurale cerebrale* (36,4%, n = 28) > *alte anomalii ale SNC* (18,2%, n = 14) > *anencefalie* (15,6%, n = 12) și *hidrocefalie* (15,6%, n = 12) > *spina bifidă* (6,5%, n = 5) > *encefalocel* (5,2%, n = 4) > *microcefalie* (2,6%, n = 2);

• anul 2019 - *anomalii structurale cerebrale* (26,1%, n = 18) > *hidrocefalie* (23,2%, n = 16) > *alte anomalii ale SNC* (20,3%, n = 14) > *spina bifidă* (14,5%, n = 10) > *anencefalie* (10,1%, n = 7) > *encefalocel* (2,9%, n = 2) și *microcefalie* (2,9%, n = 2);

• anul 2020 - *anomalii structurale cerebrale* (25,8%, n = 8) și *spina bifida* (25,8%, n = 8) > *alte anomalii ale SNC* (22,6%, n = 7) > *hidrocefalie* (12,9%, n = 4) > *anencefalie* (6,5%, n = 2) > *encefalocel* (3,2%, n = 1) și *microcefalie* (3,2%, n = 1);

• anul 2021 - *anomalii structurale cerebrale* (38,9%, n = 14) > *alte anomalii ale SNC* (19,4%, n = 7) > *hidrocefalie* (13,9%, n = 5) > *anencefalie* (11,1%, n = 4) și *spina bifidă* (11,1%, n = 4) > *encefalocel* (2,8%, n = 1) și *anomalii ale măduvei spinării* (2,8%, n = 1);

• anul 2022 - *hidrocefalie* (40,0%, n = 8) > *anencefalie* (20,0%, n = 4) > *anomalii structurale cerebrale* (10,0%, n = 2) și *anomalii* ale măduvei spinării (10,0%, n = 2) și *alte anomalii ale SNC* (10,0%, n = 2) > *encefalocel* (5,0%, n = 1) și *microcefalie* (5,0%, n = 1);

• anul 2023 - *hidrocefalie* (33,3%, n = 4) și *anomalii structurale cerebrale* (33,3%, n = 4) > *spina bifidă* (16,7%, n = 2) > *anencefalie* (8,3%, n = 1) și *alte anomalii ale SNC* (8,3%, n = 1).

Per general, în perioada evaluată (2018-2023) se atestă următoarea ierarhie: *anomalii structurale cerebrale* (30,2%, n = 74) > *hidrocefalie* (20,0%, n = 49) > *alte anomalii ale SNC* (18,4%, n = 45) > *anencefalie* (12,2%, n = 30) > *spina bifidă* (11,8%, n = 29) > *encefalocel* (3,7%, n = 9) > *microcefalie* (2,4%, n = 6) > *anomalii ale măduvei spinării* (1,2%, n = 3).

Ulterior s-au analizat tendințele per tip patologie în baza regresiilor Poisson în perioada 2018-2023 (figura 17), observându-se următoarele tendințe temporale: *anomaliile măduvei spinării* au fost singurul subtip cu o valoare pozitivă a coeficientului (β = +0,693), indicând o tendință ușor crescătoare, dar nesemnificativă statistic (p = 0,571); *anomaliile structurale cerebrale* au prezentat o scădere semnificativă în timp (β = -0,413; p = 1,53e-07), indicând o scădere stabilă a numărului de cazuri; *alte anomalii ale SNC* au avut, de asemenea, o scădere semnificativă (β = -0,426; p = 0,0015); *anencefalia* a demonstrat o tendință descrescătoare semnificativă statistic (β = -0,386; p = 0,0015); *spina bifidă* și *hidrocefalia* au prezentat, de asemenea, tendințe descrescătoare semnificative (β = -0,306; p = 0,00957; respectiv β = -0,227; p = 0,00948); *encefalocelul* a avut o tendință descrescătoare, dar nesemnificativă statistic (β = -0,417; p = 0,111); *microcefalia* nu a prezentat o tendință clară (β = -0,207; p = 0,495), iar variațiile anuale ar putea fi atribuite fluctuației aleatorii.

Modelul Poisson pe totalul cazurilor a relevat o scădere semnificativă (β = −0,35087; ES = 0,04165; z = −8,43; p = 2e-16; AIC = 43,12), iar semnificația statistică s-a păstrat pentru totalul cazurilor folat-prevenibile (β = −0,36467; ES = 0,07969; z = −4,58; p <0,00001; AIC = 29,54). De asemenea, la verificarea raportului dintre numărul de cazuri folat-prevenibile și cel total (model liniar) nu s-a observat o semnificație statistică (β = −0,00841; p = 0,448), dat fiind faptul că proporția cazurilor prevenibile a rămas relativ constantă (~25-27% din totalul cazurilor).

În conformitate cu interpretarea graficelor și a coeficienților individuali ai regresiilor Poisson, s-a sugerat ipoteza că unele subtipuri de MCSN ar putea evolua diferit în timp comparativ cu altele. Astfel, a fost construit un model Poisson generalizat (GLM), cu termen de interacțiune *an* x *tipul anomaliei* (*An* × *Tip anomalie*), pentru a evalua simultan evoluția temporală a cazurilor și posibilele diferențe de tendință între categoriile diagnosticate. Prin acest model, cu utilizarea distribuției Poisson cu funcție de legătură logaritmică, care a inclus *anul* ca predictor continuu, *subtipul de anomalie* ca factor și un termen de interacțiune *An* × *subtipul de anomalie* pentru examinarea dacă, rata de modificare în timp diferă semnificativ între tipurile patologiei.

Modelul general s-a prezentat cu o potrivire bună cu datele examinate: devianța reziduală este de 41,47 la 33 grade de libertate, semnificativ mai mică decât devianța nulă (711,18 la 52 gl), iar coeficientul AIC (*Akaike Information Criterion*) este de 268,87, sugerând că predictorii incluși explică o parte semnificativă din variația numărului de cazuri.

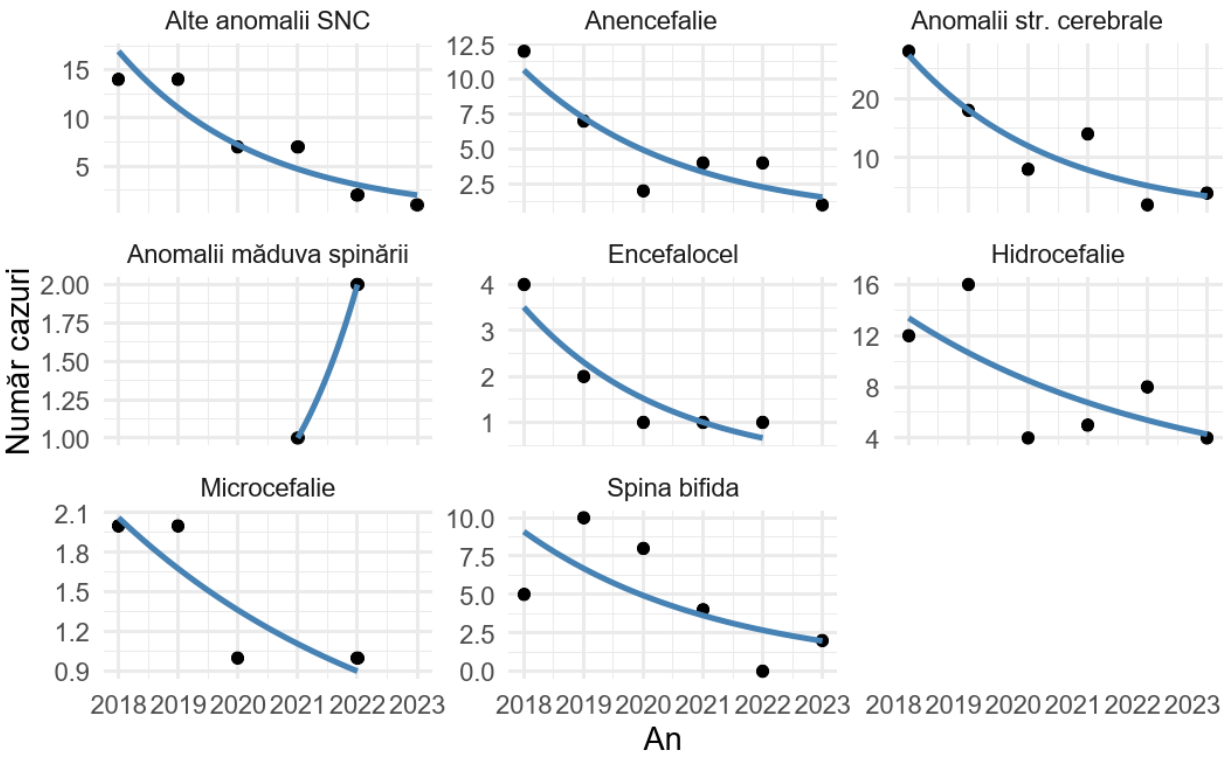


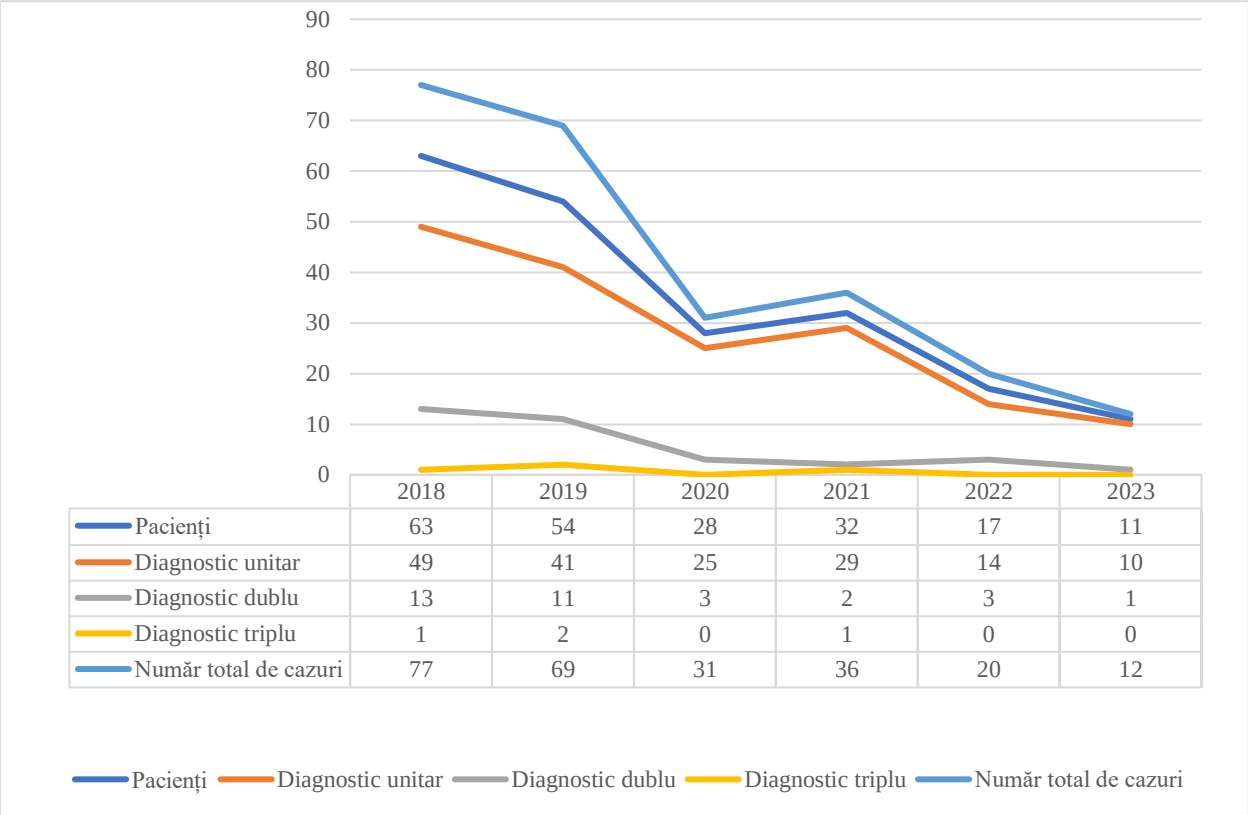
Figura 17. Tendințele temporale ale incidenței MCSN în RM în perioada 2018-2023

A fost observat un efect negativ semnificativ al *anului* (β = −0,386; ES = 0,122; z = -3,17; p = 0,0015), indicând o scădere constantă și semnificativă statistic a numărului total de anomalii congenitale ale sistemului nervos în perioada 2018-2023. În schimb, niciunul dintre efectele principale pentru tipurile anomaliei nu a fost semnificativ, ceea ce sugerează că în anul de bază (referință) valorile medii ale cazurilor nu se diferențiau semnificativ față de categoria de referință (de ex., anencefalia). De asemenea, niciunul dintre termenii de interacțiune *an × subtipul de anomalie* nu a fost semnificativ statistic (toate valorile p >0,05), ceea ce demonstrează că rata de scădere în timp a fost relativ uniformă între toate subtipurile.

Astfel, deși s-a observat o reducere generală a numărului de cazuri, această tendință a fost omogenă din punct de vedere statistic între diferitele categorii de diagnostic. Acest fapt sugerează că, deși subtipurile au avut niveluri diferite de prevalență, ritmul de scădere anuală a fost statistic similar între variabile.

Caracterul uniform al acestei tendințe descrescătoare între subtipuri evidențiază o posibilă acțiune sistemică de prevenire și de control la nivel populațional Acest aspect justifică necesitatea investigațiilor suplimentare, necesare pentru a înțelege mecanismele ce stau la baza scăderii numărului de cazuri, precum și pentru a urmări dacă tendințele se mențin pe termen lung.

În perioada analizată (2018-2023), numărul total de pacienți diagnosticați cu MCSN a fost de 205 (245 cazuri de MCSN, dat fiind că erau și copii cu multiple MCSN concomitent), cu o scădere clară de la 63 pacienți în 2018 la 11 pacienți în 2023 (figura 18).



	2018	2019	2020	2021	2022	2023
Pacienți	63	54	28	32	17	11
Diagnostic unitar	49	41	25	29	14	10
Diagnostic dublu	13	11	3	2	3	1
Diagnostic triplu	1	2	0	1	0	0
Număr total de cazuri	77	69	31	36	20	12

Figura 18. Evoluția anuală a numărului de pacienți și a tipurilor de diagnostic MCSN în RM în perioada 2018-2023

Structura cazurilor relevă o predominare a cazurilor cu un diagnostic unitar (un singur tip de anomalie per pacient) - 168 (81,95%) în total, urmate de cazuri cu diagnostic dublu (două subtipuri per pacient) - 33 (16,1%) în total și cazuri cu diagnostic triplu (trei subtipuri per pacient) - 4 (1,95%) în total.

Evaluarea frecvenței MCSN în populația pediatrică din RM versus EUROCAT (în anii 2018-2021)

În perioada 2018-2021, în RM s-au născut 154.066 copii, iar 1978 din ei prezentau malformații congenitale, din care 202 - cu MCSN, ceea ce a reprezentat 10,21% din totalul anomaliilor.

Analiza datelor din Registrul Național al Malformațiilor Congenitale pentru perioada 2018-2021 a făcut posibilă calcularea frecvenței malformațiilor cerebrale. Anomaliile congenitale cerebrale s-au plasat pe primul loc (44,27%), cu frecvența de 5,27/10.000 n.n. Locul doi ca frecvență (29,69%) îi revine hidrocefaliei - 3,7/10.000 n.n. Anencefalia se află pe locul trei (16,67%), cu o frecvență de 2,01/10.000 n.n. Encefalocelul reprezintă 5,21% din cazuri (0,39/10000 n.n). Microcefalia a apărut cel mai rar în perioada de studiu (4,17%), având o frecvență de 0,51/10.000 n.n. (figura 19).

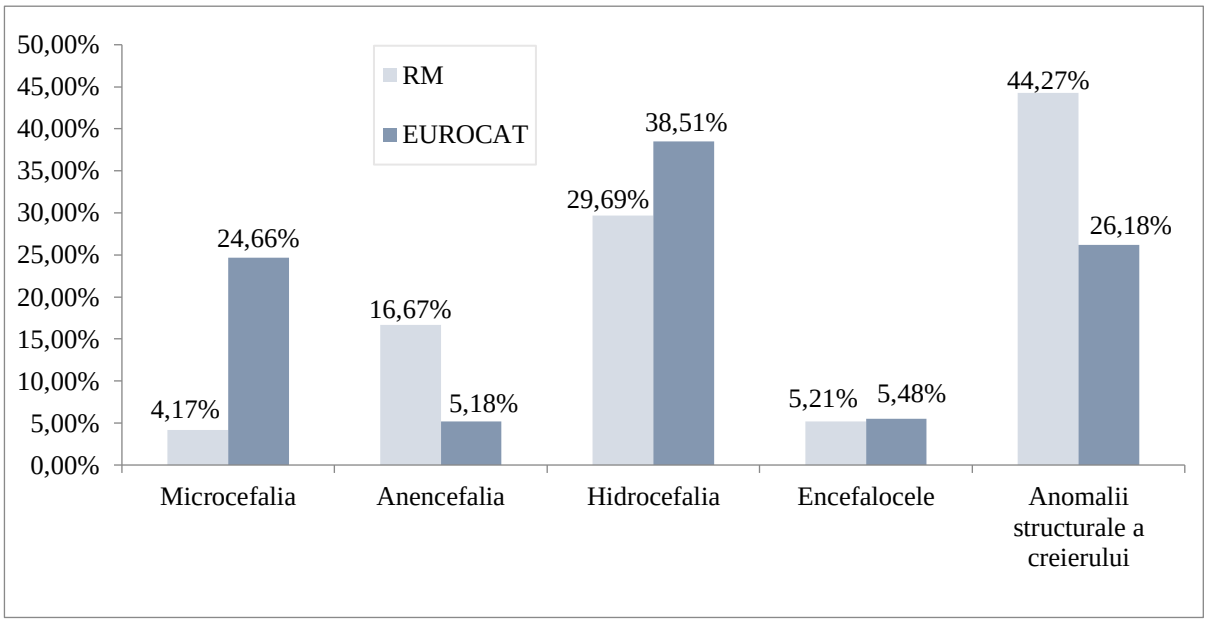


Figura 19. Compararea frecvenței MCSN în RM și în registrul EUROCAT (în perioada 2018-2021)

A fost efectuată o analiză comparativă a incidenței anomaliilor cerebrale în RM și în țările din Registrul European Internațional EUROCAT. Spre deosebire de RM, în structura anomaliilor congenitale cerebrale în EUROCAT predomină hidrocefalia cu 38,51% cazuri (2,53/10.000 sau 1:3953 n.n. (figura 19, tabelul 2). În RM, în perioada studiată, hidrocefalia a apărut cu o frecvență de 1:2703 n.n. (tabelul 2). Anomaliile congenitale cerebrale s-au observat în țările EUROCAT la 26,18% din n.n. (1,72/10.000 sau 1:5814), iar în țara noastră, această malformație ocupă primul loc în structura anomaliilor cerebrale (1:1898 n.n.). În cazul EUROCAT, microcefalia ocupă locul al treilea în ceea ce privește frecvența apariției - 24,66% cazuri (1,62/10.000 sau 1:6173 n.n., tabelul 2).

Tabelul 2. Structura malformațiilor congenitale cerebrale în RM și în EUROCAT în anii 2018-2021

Malformație	**Republica Moldova**		**EUROCAT**	
	la 10.000 n.n.	Frecvența abs.	la 10.000 n.n.	Frecvența abs.
Microcefalie	0,51	1:19607	1,62	1:6173
Encefalocel	0,39	1:25641	0,36	1:27777
Anencefalie	2,01	1:4975	0,34	1:29412
Hidrocefalie	3,70	1:2703	2,53	1:3953
Anomalii structurale cerebrale	5,27	1:1898	1,72	1:5814

Frecvența encefalocelului în țările EUROCAT (0,36/10.000 sau 1:27.777 n.n.) a fost comparabilă cu frecvența acestei anomalii cerebrale în țara noastră – 0,39/10.000 sau 1:25.641 n.n. (tabelul 2).

În țările EUROCAT, anencefalia la nou-născuți în perioada studiată a fost de 6 ori mai puțin frecventă decât în RM - 0,34 și 2,01/10.000 sau 1:29.412 și, respectiv, 1:4975 n.n. (tabelul 2). Această diferență poate fi explicată printr-un nivel mai înalt de diagnosticare prenatală a acestor patologii în țările europene.

Ținând cont de faptul că pe site-ul EUROCAT erau disponibile date până în 2021 inclusiv, în studierea dinamicii frecvenței anomaliilor cerebrale la nou-născuți în țara noastră și în țările EUROCAT am comparat datele din Registrul Național de Malformații Congenitale al RM cu datele EUROCAT pentru perioada 2018-2021 [40].

Analizând dinamica incidenței anencefaliei la 10.000 de nou-născuți în RM în comparație cu datele EUROCAT, putem concluziona că, din 2018 până în 2020, incidența anencefaliei în țara noastră a scăzut de la 4,05 la 0,65 la 10.000 n.n. (figura 20).

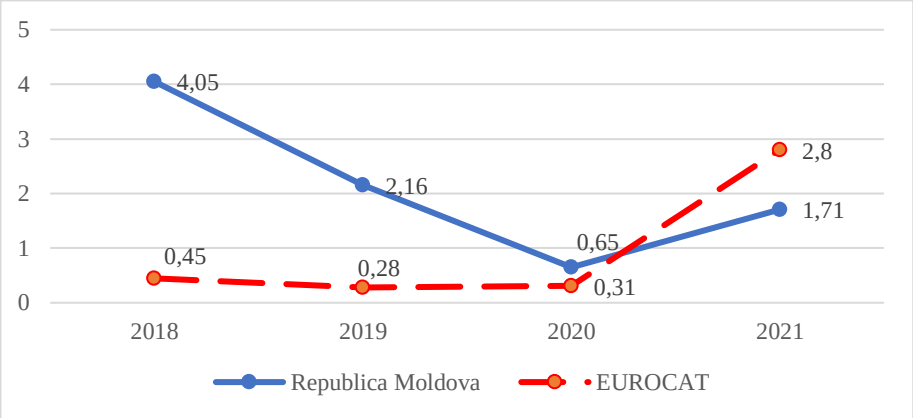


Figura 20. Evoluția incidenței anencefaliei la 10.000 de nou-născuți în RM și în rețeaua EUROCAT (în perioada 2018-2021)

În aceeași perioadă, frecvența copiilor născuți cu această anomalie cerebrală în țările europene a fost mult mai mică și s-a menținut între 0,45 și 0,31 la 10.000 n.n., apoi a crescut până la 2,8 la 10.000 n.n. în anul 2021. Aceeași tendință a fost observată și în țara noastră – o creștere a incidenței anencefaliei până la 1,71 la 10.000 n.n. (figura 20).

Frecvența nașterilor n.n. cu hidrocefalie în RM în 2018 și 2019 a fost semnificativ mai mare decât în țările EUROCAT - 4,92 și, respectiv, 6,48 la 10.000 n.n., pe când în țările europene ratele înregistrate au fost de 2,7 (2018) și, respectiv, 2,77 (2019) la 10.000 n.n. Incidența hidrocefaliei în RM a scăzut până la 1,3/10.000 n.n. în 2020 și a crescut până la 2,39/10.000 n.n. în 2021, iar în țările EUROCAT, ratele au fost de 2,6 în 2020 și de 2,05/10.000 n.n. în 2021. În pofida fluctuațiilor observate ale frecvenței acestei patologii în RM, nivelul acesteia a depășit frecvența relativ stabilă a hidrocefaliei în țările EUROCAT (figura 21).

Analiza incidenței encefalocelului în RM a relevat ușoare fluctuații ale frecvenței între 0,32 și 0,34/10.000 n.n. pe an, cu excepția anului 2019, când incidența acestei malformații a fost de

0,58/10.000 n.n., pe când în țările EUROCAT, incidența n.n. cu encefalocel a rămas relativ constantă și a fluctuat ușor între 0,34 și 0,4/10.000 n.n. (figura 22).

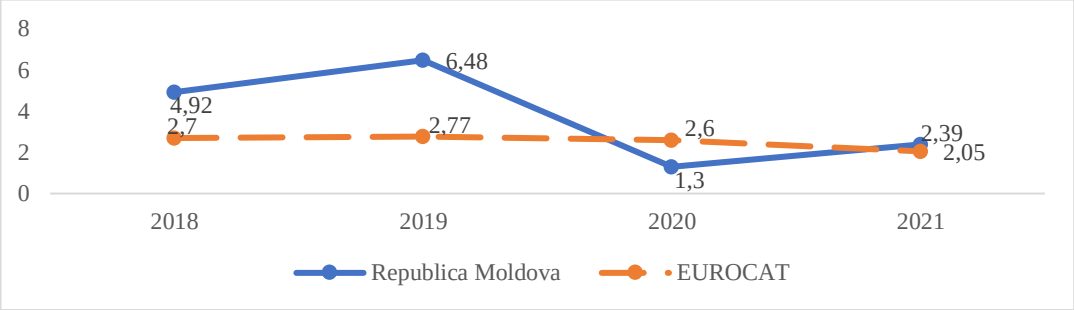


Figura 21. Evoluția incidenței hidrocefaliei la 10.000 de nou-născuți în RM și în rețeaua EUROCAT (în perioada 2018-2021)

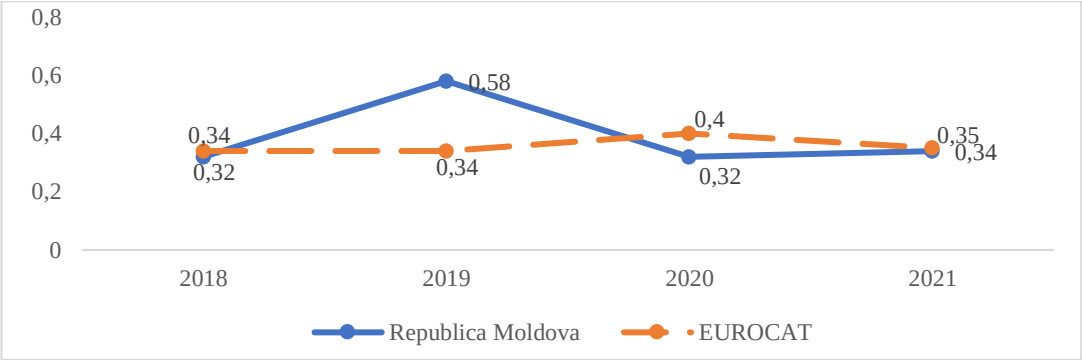


Figura 22. Evoluția incidenței encefalocelului la 10.000 de nou-născuți în RM și în rețeaua EUROCAT (în perioada 2018-2021)

Trebuie de remarcat că în perioada studiată, în RM, copiii cu anomalie congenitală cerebrală, precum encefalocelul, s-au născut cu aproximativ aceeași frecvență ca în țările EUROCAT.

Comparând dinamica incidenței microcefaliei la n.n. în RM și în EUROCAT, se observă că, în perioada studiată, incidența în 2018 a crescut de la 0,58 până la 0,93/10.000 n.n., apoi a scăzut până la 0,32/10.000, iar în 2021 nu a fost înregistrat niciun caz de microcefalie.

Țările EUROCAT au prezentat, de asemenea, o tendință de creștere a incidenței microcefaliei din 2018 până în 2019 de la 1,71 până la 2,31/10.000 n.n., însă incidența a fost semnificativ mai mare în comparație cu datele din RM. Până în 2020, incidența microcefaliei a scăzut până la 1,74 (figura 23), apoi a crescut până la 2,34/10.000 n.n. În general, incidența anuală a microcefaliei în Europa a fost de 1,5-2 ori mai mare decât în RM. Acest lucru poate fi explicat parțial prin erorile de înregistrare a cazurilor de microcefalie în RM.

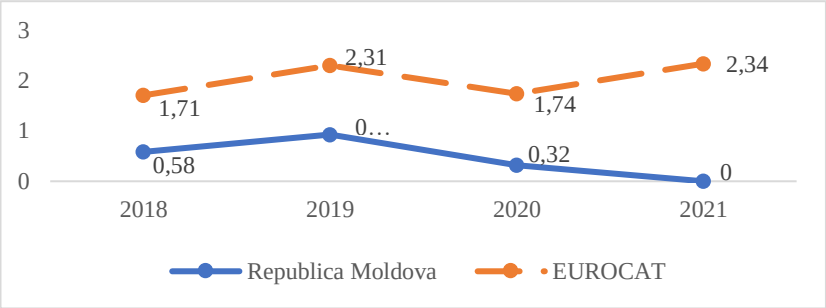


Figura 23. Evoluția incidenței microcefaliei la 10.000 de nou-născuți în RM și în rețeaua EUROCAT (în perioada 2018-2021)

Astfel, frecvența nașterilor cu anomalii cerebrale congenitale a fost semnificativ mai mare în RM în comparație cu EUROCAT. Cea mai mare frecvență (10,3/10.000 de n.n.) a fost observată în 2018, în 2019 rata a scăzut până la 6,79, în 2020 - până la 3,57/10.000 n.n., iar în continuare se conturează o tendință de creștere până la 4,77/10.000 n.n. În țările EUROCAT, incidența nașterilor copiilor cu anomalii congenitale cerebrale a rămas aproape constantă pe parcursul perioadei de studiu, fluctuând ușor de la 1,55 în 2018 până la 1,87/10.000 n.n. în 2019 și 2020 (figura 24).

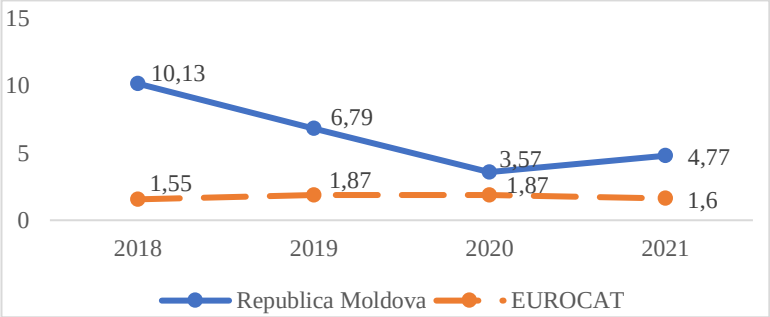


Figura 24. Evoluția incidenței anomaliilor structurale cerebrale la 10.000 de nou-născuți în RM și în rețeaua EUROCAT (în perioada 2018-2021)

Așadar, putem concluziona că MCSN precum anomaliile structurale, hidrocefalia și anencefalia au fost mai frecvente în RM decât în țările EUROCAT în perioada 2018-2021. Microcefalia a fost mai puțin frecventă în RM decât în EUROCAT, iar frecvențele encefalocelului în RM și în EUROCAT au fost aproape similare.

Dinamica cazurilor de MCSN în RM înregistrează fluctuații semnificative, pe când în țările europene, frecvența diferitelor forme de anomalii congenitale cerebrale rămâne practic neschimbată, cu excepția anencefaliei. În cazul acestei malformații, tendințele dinamice din RM și EUROCAT au fost similare.

3.2. Evaluarea asocierilor dintre factorii sociodemografici și periconcepționali și malformațiile congenitale ale sistemului nervos: studiu caz-control

În cadrul studiului s-au evaluat două loturi de bază: *lotul 1*, ***de studiu*** (*MCSN*, n = 70, cuprinzând copii cu MCSN, inclusiv copii cu MCSN folat-dependente - *FMCSN*, n = 16), și *lotul 2*,

de control (*control*, n = 70, n.n. fără MCSN). Copii cu MCSN folat-dependente (FMCSN, n = 16) au fost considerați cei diagnosticați cu una dintre formele clinice prevenibile prin suplimentare cu folat.

Evaluarea statistică a fost efectuată prin realizarea a două comparații privind frecvența/expresia și asocierea diferiților parametri cu subgrupurile menționate:

1) copii cu MCSN versus copii fără MCSN (*MCSN* vs *control*);
2) copii cu MCSN folat-dependente versus copii fără MCSN (*FMCSN* vs *control*).

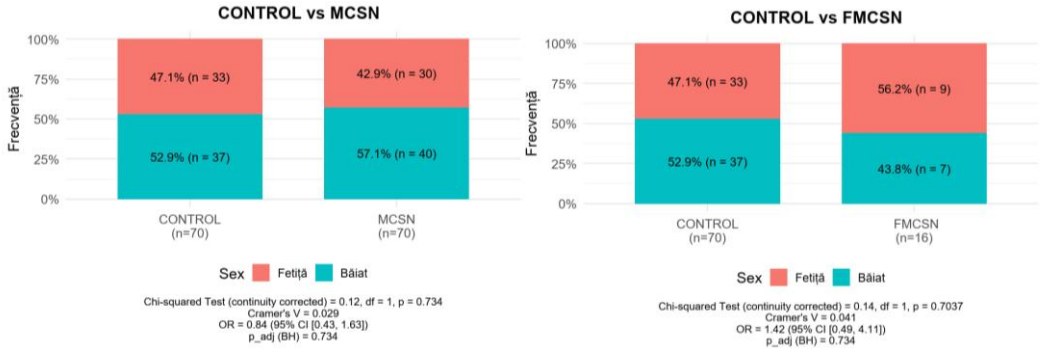


Figura 25. Distribuția copiilor din eșantioanele investigate în funcție de sex

Dintre factorii sociodemografici, au fost caracterizați parametri precum: *sexul copilului*, *vârsta la includerea în studiu* (adresarea în secție și acordul de participare în studiu), *locul de trai*, *statutul socioeconomic*, *numărul de copii înregistrați în familie*.

Copiii din lotul de control (n = 70) au fost n.n. sănătoși (absența MCSN), pe când copiii din lotul cu MCSN (n = 70) au fost cei luați în studiu la adresarea în secție, cu vârsta cuprinsă între 0 și 211 luni (IQR = 34,25; mediana = 15). La compararea grupului total de copii cu MCSN cu copiii cu MCSN folat-prevenibile (FMCSN, n = 16), s-a observat că nu se atestă diferențe statistic semnificative după vârstă (W = 368,5; p = 3,779e-01), deși s-a atestat un diapazon diferit de vârstă la copiii cu FMCSN – între 0 și 126 de luni (IQR = 33,75; mediana = 7,50).

În ambele loturi de bază au predominat copiii de sex masculin (*MCSN* - 57,1%, n = 40; *control* - 52,9%, n = 37), însă fără a fi observate diferențe statistic semnificative (χ^2 = 0,12; gl = 1; p_{adj} = 0,7340), rezultate prezentate în figura 25. S-a observat că printre copiii cu FMCSN predominau fetițele (n = 9; 56,2%), însă aceste diferențe au fost statistic nesemnificative la compararea cu lotul de control (χ^2 = 0,14; gl = 1; p = 0,7037; p_{adj} = 0,7340).

În funcție de locul de trai (figura 26), în ambele loturi de bază au predominat copiii din mediul rural (*MCSN* - 51,4%, n = 36; *control* - 58,6%, n = 41), însă fără a fi observate diferențe statistic semnificative (χ^2 = 0,46; gl = 1; p_{adj} = 0,6399). S-a constatat că printre copiii cu FMCSN predominau cei originari din mediul rural (n = 11; 68,8%), însă aceste diferențe au fost nesemnificative statistic la compararea cu lotul de control (χ^2 = 0,22; gl = 1; p = 0,6399; p_{adj} = 0,6399).

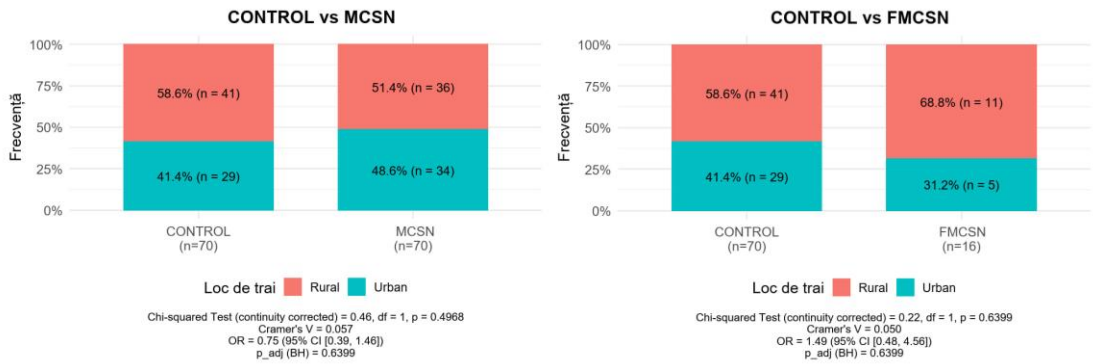


Figura 26. Distribuția copiilor din eșantioanele investigate în funcție de locul de trai

Copiii din lotul de control (n = 70) au prezentat la naștere un scor APGAR cu valori mai înalte față de cei cu MCSN (diapazon - 5-9; IQR = 0,75; mediana = 8 vs diapazon - 2-8; IQR = 1, mediana = 7), aceste diferențe fiind statistic semnificative (W = 4041,5; p_{adj} = 5,3836e-12) după cum rezultă din figura 28 *A*.

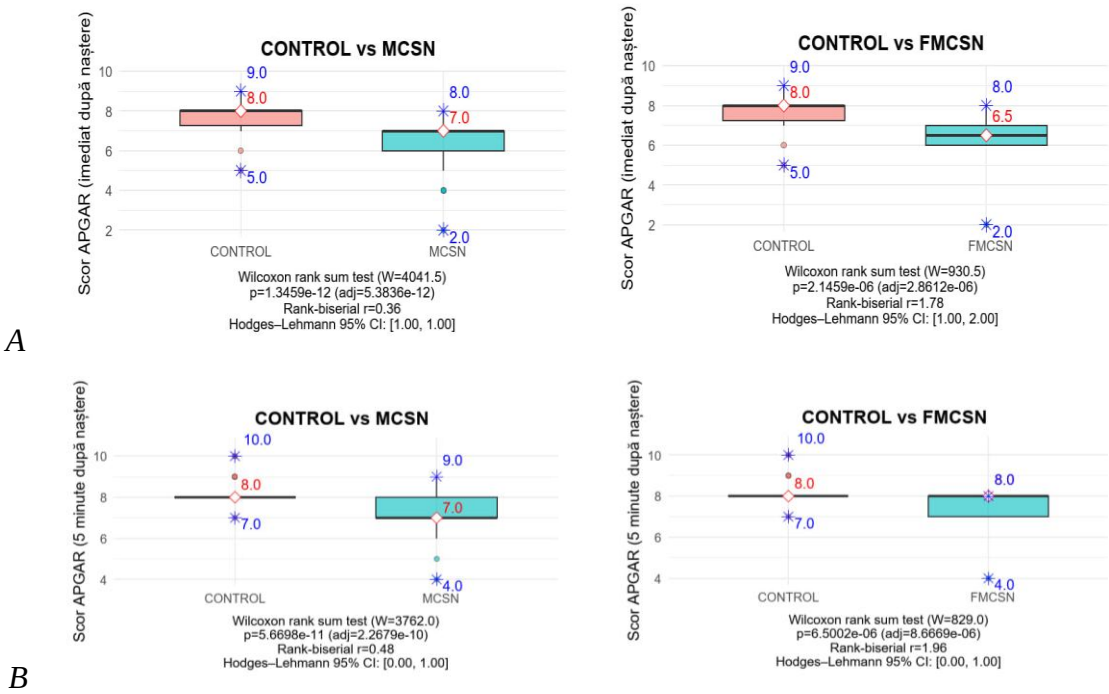


Figura 27. Scorul APGAR la copiii din eșantioanele investigate

Notă: A – imediat după naștere; B – 5 minute după naștere

În mod similar, copiii cu FMCSN au avut valori mai reduse față de lotul de control, cu semnificație statistică (W = 930,5; p_{adj} = 2,8612e-06). Copiii din lotul de control (n = 70), la 5 minute după naștere, au prezentat un scor APGAR cu valori mai înalte decât copiii cu MCSN (diapazon - 7-10, IQR = 0, mediana = 8 versus diapazon - 4-9, IQR = 1, mediana = 7), aceste diferențe fiind statistic semnificative (W = 3762,0; p_{adj} = 2,268e-10). În mod similar, copiii cu FMCSN au avut valori mai reduse față de lotul de control, cu semnificație statistică (W = 829,0; p_{adj} = 8,667e-06), date prezentate în figura 27 *B*.

După frecvența variantelor de număr al copiilor existenți în familie, se atestă o distribuție expusă în tabelul 3. Astfel, se poate observa că în ambele grupuri (*MCSN* și *control*) predomină variantele cu un număr de copii redus în familie, iar în grupul *MCSN* se atestă și cazuri cu un număr >3 copii, însă, per general, diferențele de proporții între grupuri au fost statistic nesemnificative (p = 0,065). Evaluarea ulterioară comparativă a conturat un raport al șanselor (OR) în cazul prezenței ≥3 copii în familie cu valoarea de 14,2093; $ÎI_{95\%}$ (0,7848; 257,2754), însă nesemnificativ statistic (p = 0,072). De asemenea, compararea subgrupului de copii cu FMCSN cu grupul de control a relevat o ușoară tendință de prezență mai frecventă a variantelor cu mai mulți copii în familie în grupul FMCSN, însă fără semnificație statistică (p = 0,101).

Tabelul 3. Distribuția numărului de copii existenți în familie în loturile studiate

Nr. de copii existenți în familie	**Loturi de bază**		**Subgrup**	**Test statistic *MCSN* vs *control***	**Test statistic *FMCSN* vs *control***
	***Control* (n = 70)**	***MCSN* (n = 70)**	***FMCSN* (n = 16)**		
1	36 (51,43%)	28 (40%)	6 (37,5%)	χ^2 = 8,848 gl = 4 p = 0,065	χ^2 = 6,24 gl = 3 p = 0,101
2	25 (35,71%)	21 (30%)	5 (31,2%)		
3	9 (12,86%)	15 (21,43%)	4 (25%)		
4	0 (0%)	2 (2,86%)	0 (0%)		
5	0 (0%)	4 (5,71%)	1 (6,2%)		

La colectarea anamnezei s-a stabilit că în 6 cazuri din grupul cu MCSN au fost înregistrați anterior copii născuți cu maladii neurologice sau de tip MCSN (dintre care 2 cazuri în subgrupul *FMCSN*), pe când în grupul de control nu au fost înregistrate astfel de cazuri, diferențele fiind statistic semnificative (simulare Monte Carlo - 10.000 simulări, χ^2 = 6,27; p = 2,42e-02; V = 0,212).

În funcție de starea socioeconomică familială (figura 28), s-a constatat că în grupul cu MCSN se atestă o frecvență mai mare a persoanelor social vulnerabile (44,3%, n = 31), comparativ cu grupul de control (11,4%, n = 8). Aceste diferențe au fost statistic semnificative (χ^2 = 18,802; gl = 1; p = 1,45e-05). Evaluarea ulterioară comparativă a constatat un raport al șanselor (OR) în cazul prezenței vulnerabilității sociale în familie cu valoarea de 6,1603; $ÎI_{95\%}$ (2,5695; 14,7689), semnificativ statistic (p <0,001). În subgrupul FMCSN (n = 16) s-a atestat o predominare a copiilor din familii social vulnerabile, cu o frecvență mai mare în comparație cu grupul total de copii cu MCSN (56,2% vs 44,3%), diferențele față de grupul de control fiind statistic semnificative (simulare Monte Carlo - 10.000 simulări, χ^2 = 18,50; p = 5,00e-04; V = 0,438).

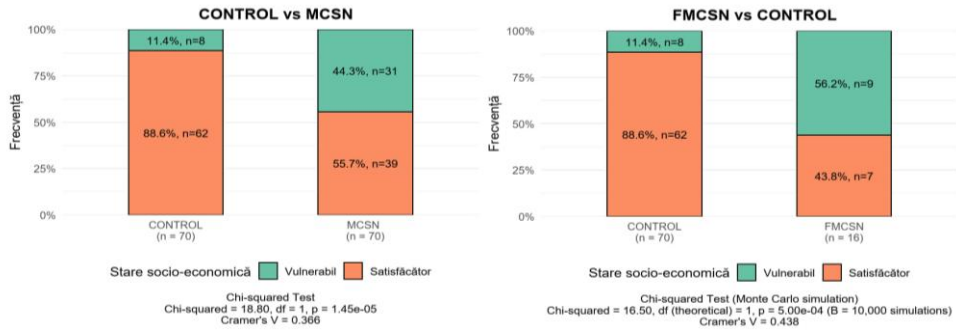


Figura 28. Starea socioeconomică în familie în subgrupurile investigate

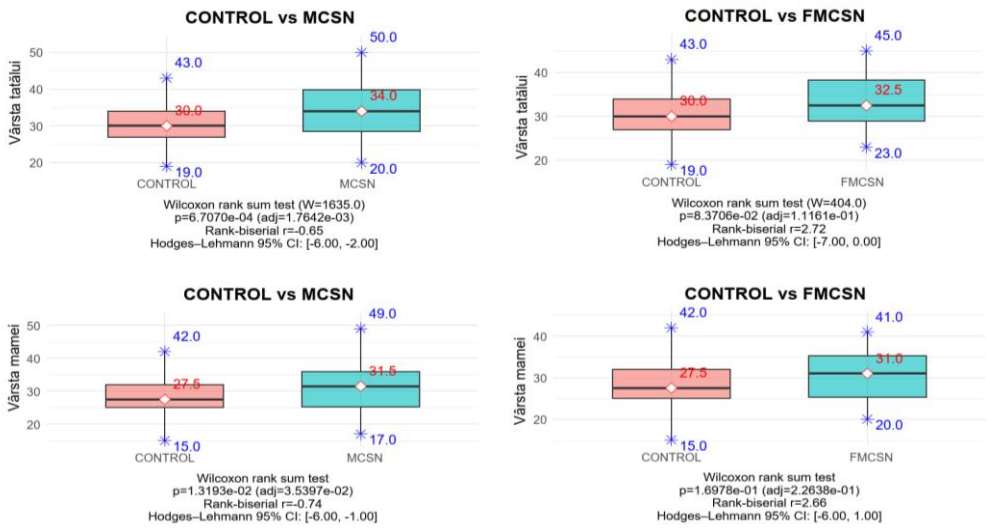


Figura 29. Vârsta părinților copiilor în subgrupurile investigate

După cum se vede în figura 29, referitor la vârsta părinților copiilor investigați în studiu se observă următoarele:

- În general, în grupul de control la părinți (atât la mame, cât și la tați) se observă o vârstă medie mai mică față de părinții copiilor cu MCSN (inclusiv cu FMCSN), iar acest lucru se reflectă și în intervalul de vârstă.
- În grupul de copii cu MCSN s-au observat diferențe statistic semnificative ale vârstei tatălui față de cea a mamei la copii din grupul de control (p <0,05), iar în subgrupul cu FMCSN, această tendință nu are semnificație statistică (p >0,05).
- În grupul de copii cu MCSN s-au observat diferențe statistic semnificative cu privire la vârsta mamei față de cea a mamelor copiilor din grupul de control (p <0,05), această tendință fiind menținută și în subgrupul cu FMCSN.

În studiul efectuat, am remarcat influența extrem de înaltă a diferiților factori de mediu asupra organismului matern/patern la pacienții din ambele loturi (anexele 4-5), fiind observate diferite variante de asociere între factorii evaluați și apartenența la subgrup (*control*/*MCSN*/ *FMCSN*), în continuare fiind prezentate relațiile statistic semnificative (p < 0,05).

Factori paterni (anexa 4)

- La nivel de factori paterni asociați cu cei de tip infecțios, la tații copiilor cu MCSN față de cei fără MCSN (de control) mai frecvent s-au atestat cazuri cu infecții din complexul TORCH, iar această tendință se menține și la cei cu FMCSN (62,5%).
- La nivel de factori paterni legați de stilul de viață (vicii), s-a observat că la tații copiilor cu MCSN față de cei fără MCSN s-au înregistrat mai frecvent cazuri de vicii nocive, în special tabagism și consum de alcool (>50% versus 2,9-4,3%), această tendință menținându-se și la nivel de FMCSN (tabagism - 68,8%; consum de alcool - 68,8%). Este de notat că utilizarea drogurilor, deși are per general o frecvență redusă la tații copiilor cu MCSN (sub 10%), a fost mai frecventă în grupul cu FMCSN (12,5%), ceea ce se reflectă și într-un OR mai marcat, statistic semnificativ: OR = 24,31; $IÎ_{95\%}$ (1,11; 533,51) în *FMCSN* versus OR = 14,21; $IÎ_{95\%}$ (0,78; 257,28) în *MCSN* față de *control*.
- Evaluarea factorilor generali privind sănătatea tații copiilor investigați nu a relevat frecvențe înalte (>50%) a problemelor de sănătate cercetate, totuși o tendință generală a fost ca mai frecvent aceste probleme să se observe la tații copiilor cu MCSN față de cei fără MCSN (de control). Dintre factorii analizați, s-au remarcat în special diabetul zaharat și HTA, care prezentau o frecvență mai mare la tații copiilor cu MCSN, în special la cei cu FMCSN, ceea ce se confirma și printr-un OR mai marcat, statistic semnificativ: OR = 36,56; $IÎ_{95\%}$ (1,78; 749,00) în *FMCSN* versus OR = 24,47; $IÎ_{95\%}$ (1,40; 426,37) în *MCSN* față de *control*. Alți factori care s-au evidențiat la compararea subgrupurilor au fost epilepsia, viciile cardiace, statusul supraponderal și utilizarea unor medicații, însă efectul acestora era mai puțin consistent (OR semnificativ/nesemnificativ) și cu valori diferite (în funcție de subtipul de MCSN).

Factori materni (anexa 5)

- La nivel de factori materni de tip infecțios, la mamele copiilor cu *MCSN* față de cei fără MCSN (*control*) mai frecvent (>50%) s-au înregistrat cazuri cu infecții din complexul TORCH, această tendință fiind păstrată și la nivel de *FMCSN* (68,8%). Acest lucru se reflectă și într-un raport al șanselor mai marcat de a fi cu infecții TORCH în cazul FMCSN.
- La nivel de factori materni legați de stilul de viață (vicii), la mamele copiilor cu *MCSN* față de cei fără MCSN (*control*) mai frecvent s-au înregistrat cazuri cu vicii, în special consum de alcool sau consum de droguri, însă valorile frecvențelor denotă că acest fenomen nu a fost predominant și larg răspândit (până la 25% cazuri). Totuși, această tendință s-a păstrat și la nivel de FMCSN. Acest lucru se reflectă și într-un raport al șanselor mai marcat de utilizare de droguri sau consum de alcool în cazul FMCSN.
- Evaluarea factorilor generali privind sănătatea mamelor copiilor investigați a relevat frecvențe variate și cu diverse variabile privind problemele de sănătate cercetate. S-au remarcat în special

următorii factori: *status supraponderal, HTA, pielonefrită, anemie, utilizarea de medicație, aflarea în evidența diverșilor medici-specialiști*, iar în măsură mai redusă – *epilepsie, maladii genetice.* Este de notat că nu s-au relevat tendințe marcate de diferențe între frecvențele în funcție de subtip de MCSN (*FMCSN*), acest lucru reflectându-se și în valorile aproximativ similare ale raportului șanselor.

Per general, dacă este să comparăm impactul factorilor după părinte (matern versus patern), în contextul frecvențelor mai sporite la părinții copiilor cu MCSN față de cei din lotul de control, se observă că unii factori au fost comuni pentru mame și tați, prezentând un risc sporit pentru MCSN (*infecțiile TORCH, consum de alcool, utilizarea medicații, evidența la medici-specialiști, HTA, status supraponderal*), pe când alți factori au fost asociați cu predilecție cu tații (*tabagism, vicii cardiace, diabet zaharat*), iar alții s-au observat cu predilecție la mame (*utilizarea medicației, anemie, pielonefrită, epilepsie, boli genetice*).

Factorii analizați în cadrul anamnezei obstetrico-ginecologice (*prenatali*) relevă per general o frecvență redusă (<25%) în eșantionul studiat, remarcându-se doi factori cu un risc sporit: *prezența unor maladii genetice în familie* și *sarcini stagnate în evoluție* (în anamneză). În pofida unor tendințe de frecvență diferită în funcție de subtipul de MCSN (FMCSN), nu s-au evidențiat diferențe statistic semnificative între acestea, precum și rapoartele șanselor (OR) față de lotul de control erau aproximativ similare.

Evaluarea frecvenței factorilor *intrauterini* a relevat multiple cauze asociate cu apariția MCSN, remarcându-se în special *infecția cu citomegalovirus*, *viciile în timpul sarcinii* (*tabagism > alcool > droguri*), *expunerea la noxe* (*substanțe chimice > radiații*). S-au evidențiat, de asemenea, o serie de factori ce țin de evoluția sarcinii prin frecvențe sporite (>50%) la mamele copiilor cu MCSN: *sarcină patologică, anemie în timpul sarcinii, iminență de naștere prematură*. S-au observat variate tendințe privind frecvențele factorilor de risc în funcție de subtipul MCSN, în special pentru FMCSN s-au observat frecvențe mai înalte privind *infecția cu citomegalovirus*, *tabagism în timpul sarcinii*, *expunere la noxe* (*substanțe chimice, radiații*) etc., totuși, comparația nu a relevat diferențe statistic semnificative pentru vreunul dintre factori.

De asemenea, în baza datelor de anamneză, am comparat grupele în ceea ce privește administrarea acidului folic în timpul sarcinii (pre- și postconcepțional). Astfel, în grupul de control, majorității mamelor (88,6%, n = 62) le-a fost administrat acest supliment în perioadele menționate conform indicațiilor, pe când printre mamele cu copii cu MCSN predominau mamele care nu au primit acid folic (78,6%, n = 55), diferențele dintre aceste două grupuri fiind cu semnificație statistică (p <0,001). Examinarea subgrupului de mame cu copii cu FMCSN relevă că în 93,8% cazuri nu a fost realizată administrarea acidului folic, cu diferențe statistic semnificative față de grupul de control (p <0,001), date expuse în figura 30.

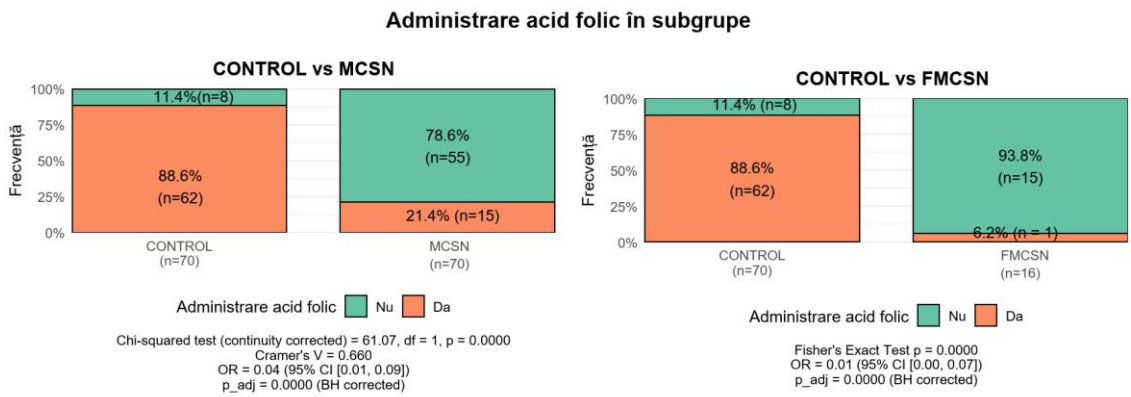


Figura 30. Administrarea acidului folic în subgrupurile investigate

Rezultatele obținute ar indica o serie de factori potențiali cu risc pentru apariția MCSN, ceea ce necesită extinderea studiilor pe eșantioane mai mari de pacienți, pentru evaluarea implicării și a rolului acestor factori în patogeneza anomaliilor cercetate. De asemenea, tendințele observate privind anumiți factori și FMCSN necesită studii ulterioare pentru confirmarea celor observate în studiul nostru.

3.3. Explorarea relațiilor nosologice și clinice în cadrul malformațiilor congenitale ale sistemului nervos: tipare de asociere și comorbidități neurologice asociate

În grupul de studiu s-au atestat următoarele frecvențe (aranjate ierarhic) ale formelor de MCSN (conform ICD-10): *hidrocefalie congenitală* (75,71%) > *chist cerebral* (24,29%) > *craniostenoză* (17,14%) > *spină bifidă* și *meningomielocelul congenital* (11,43%) > *microcefalie* (10%) > *hipogenezie hipoplazie corp calos* și *agenezie corp calos* (8,57%) > *sindrom Arnold-Chiari* (2,86%) > *atrofie cerebelară* (1,43%). Nu au fost înregistrate cazuri cu sindromul Dandy Walker. În grupul investigat, MCSN izolate reprezentau 38,6% (n = 27), iar cazurile clinice cu coprezență a mai multor tipuri de MCSN au fost: 2 tipuri de MCSN - 51,4% (n = 36), 3 tipuri de MCSN – 10% (n = 7).

În cazul prezenței unei singure forme de patologie de sine stătător/monopatologie (n = 27), s-a observat următoarea ierarhie de frecvență: *hidrocefalie* - 21 cazuri din lotul total (30%), ceea ce reprezintă 77,77% din cazurile cu o singură patologie, sau 39,62% din totalul cazurilor cu hidrocefalie, se manifestă singular, celelalte - în diferite combinații cu alte MCSN; *meningomielocelul* - 3 cazuri din lotul total (4,28%), ceea ce reprezintă 11,11% din cazurile cu o singură patologie, sau 37,5% din totalul cazurilor cu meningomielocelul, se manifestă singular, celelalte cazuri - în diferite combinații cu alte MCSN; *microcefalie* - 1 caz în lotul total (1,42%), ceea ce reprezintă 3,7% din cazurile cu monopatologie, sau 14,28% din totalul cazurilor cu microcefalie, se manifestă singular, celelalte cazuri - în diferite combinații cu alte MCSN; *agenezie* - 1 caz în lotul total (1,42%), reprezentând 3,7% din cazurile cu monopatologie, sau 16,66% din totalul cazurilor cu agenezie, se manifestă singular, celelalte cazuri - în diferite combinații cu alte

MCSN; *craniostenoză* - 1 caz în lotul total (1,42%), ceea ce reprezintă 3,7% din cazurile cu monopatologie, sau 8,33% din totalul cazurilor cu craniostenoză, se manifestă singular, celelalte cazuri - în diferite combinații cu alte MCSN.

Rezultatele relevă diferite tendințe pentru anumite MCSN, astfel, *hidrocefalia* și *meningomielocelul* se prezintă ca monopatologie cu o frecvență mai înaltă decât alte MCSN (*microcefalie*, *agenezie*, *craniostenoză*).

În cazul prezenței a două forme de MCSN (bipatologie, n = 36), s-a observat următoarea ierarhie de frecvență: *hidrocefalie* + *chist cerebral* - 12 cazuri din lotul total (17,14%), ceea ce reprezintă 33,33% din cazurile cu bipatologie, sau 22,64% din totalul cazurilor cu *hidrocefalie* se asociază cu *chistul cerebral* (respectiv 70,58% din cazurile cu *chist cerebral* se asociază cu *hidrocefalia*); *hidrocefalie* + *spina bifidă* - 6 cazuri din lotul total (8,57%), ceea ce reprezintă 16,66% din cazurile cu bipatologie, sau 11,32% din totalul cazurilor cu *hidrocefalie* se asociază cu *spina bifidă* (respectiv 75% din cazurile cu spină bifidă se asociază cu *hidrocefalia*); *hidrocefalie* + *craniostenoză* - 4 cazuri din lotul total (5,71%), ceea ce reprezintă 11,11% din cazurile cu bipatologie, sau 7,54% din totalul cazurilor cu *hidrocefalie* se asociază cu *craniostenoza* (respectiv 33,33% din cazurile de *craniostenoză* se asociază cu *hidrocefalia*); *hidrocefalie* + *microcefalie* - 2 cazuri din lotul total (2,85%), ceea ce reprezintă 5,55% din cazurile cu bipatologie, sau 3,77% din totalul cazurilor cu *hidrocefalie* se asociază cu *microcefalia* (respectiv 28,57% din cazurile cu *microcefalie* se asociază cu *hidrocefalia*); *hidrocefalie* + *hipogenezie corp calos* - 2 cazuri din lotul total (2,85%), ceea ce reprezintă 5,55% din cazurile cu bipatologie, sau 3,77% din totalul cazurilor cu *hidrocefalie* se asociază cu *hipogenezia corpului calos* (respectiv 33,33% din cazurile cu *hipogenezia corpului calos* se asociază cu *hidrocefalia*); *meningomielocel* + *craniostenoză* - 3 cazuri din lotul total (4,28%), ceea ce reprezintă 8,33% din cazurile cu bipatologie, sau 37,5% din totalul cazurilor cu *meningomielocel* se asociază cu *craniostenoza* (respectiv 25% din cazurile cu *craniostenoză* se asociază cu *meningomielocelul*); *chist cerebelar* + *agenezie* - 2 cazuri din lotul total (2,85%), ceea ce reprezintă 5,55% din cazurile cu bipatologie, sau 11,76% din totalul cazurilor cu *chist cerebelar* se asociază cu *agenezia corpului calos* (respectiv 33,33% din cazurile cu *agenezia corpului calos* se asociază cu *chist cerebelar*); *craniostenoză* + *agenezie* - 2 cazuri din lotul total (2,85%), ceea ce reprezintă 5,55% din cazurile cu bipatologie, sau 16,66% din totalul cazurilor cu *craniostenoză* se asociază cu *agenezia corpului calos* (respectiv 33,33% din cazurile cu *agenezia corpului calos* se asociază cu *craniostenoza*); *hipogenezie* + *microcefalie* - 1 caz din lotul total (1,42%), reprezentând 2,77% din cazurile cu bipatologie, sau 16,66% din totalul cazurilor cu *hipogenezie* se asociază cu *microcefalia* (respectiv 14,28% din cazurile cu *microcefalie* se asociază cu *hipogenezia*); *meningomielocel* + *microcefalie* - 1 caz din lotul total (1,42%), ceea ce reprezintă 2,77% din cazurile cu bipatologie, sau 12,5% din

totalul cazurilor cu *meningomielocel* se asociază cu *microcefalia* (respectiv 14,28% din cazurile cu *microcefalie* se asociază cu *meningomielocel*); *chist* + *craniostenoză* – 1 caz din lotul total (1,42%), ceea ce reprezintă 2,77% din cazurile cu bipatologie, sau 5,88% din totalul cazurilor cu *chist cerebral* se asociază cu *craniostenoza* (respectiv 8,33% din cazurile cu *craniostenoză* se asociază cu *chistul cerebral*).

Rezultatele obținute demonstrează că cel mai frecvent bipatologia sau patologia dublă are la bază una dintre entitățile patologice *hidrocefalia* (28 cazuri), urmată de *chistul cerebral* (15 cazuri), *craniostenoza* (8 cazuri), *spina bifidă* (6 cazuri), *microcefalia*/*meningomielo-celul*/*agenezia corpului calos* (4 cazuri), *hipogenezia corpului calos* (3 cazuri). Este necesar de menționat că, în eșantionul studiat, *spina bifidă* ca element al bipatologiei s-a identificat doar în combinație cu *hidrocefalia*.

În cazul prezenței a 3 forme de MCSN (tripatologie, n = 7), s-a observat următoarea ierarhie de frecvență: *hidrocefalie* + *spina bifidă* + *sindrom Arnold Chiari* - 2 cazuri din lotul total (2,85%), ceea ce reprezintă 28,57% din cazurile cu tripatologie, sau 3,77% din totalul cazurilor cu *hidrocefalie* se asociază cu aceste alte 2 MCSN (respectiv asocierea cu alte 2 MCSN se observă pentru 25% din cazurile cu *spina bifidă* și pentru 100% cazuri cu *sindromul Arnold Chiari* din lotul studiat); *hidrocefalie* + *hipogenezie* + *microcefalie* - 1 caz din lotul total (1,42%), ceea ce reprezintă 14,28% din cazurile cu tripatologie, sau 1,88% din totalul cazurilor cu *hidrocefalie* se asociază cu aceste alte 2 MCSN (respectiv asocierea cu alte 2 MCSN se observă pentru 16,66% din cazurile cu *hipogenezie a corpului calos* și pentru 14,28% din cazurile cu *microcefalie* din lotul studiat); *hidrocefalie* + *hipogenezie* + *atrofie cerebelară* - 1 caz din lotul total (1,42%), ceea ce reprezintă 14,28% din cazurile cu tripatologie, sau 1,88% din totalul cazurilor cu *hidrocefalie* se asociază cu aceste alte 2 MCSN (respectiv asocierea cu alte 2 MCSN se observă pentru 16,66% din cazurile cu *hipogenezie a corpului calos* și pentru 100% cazuri cu *atrofie cerebelară* din lotul studiat); *hidrocefalie* + *hipogenezie* + *chist cerebelar* - 1 caz din lotul total (1,42%), ceea ce reprezintă 14,28% din cazurile cu tripatologie, sau 1,88% din totalul cazurilor cu *hidrocefalie* se asociază cu aceste alte 2 MCSN (respectiv asocierea cu alte 2 MCSN se observă pentru 16,66% din cazurile cu *hipogenezie a corpului calos* și pentru 5,88% din cazurile cu *atrofie cerebelară* din lotul studiat); *hidrocefalie* + *meningomielocel* + *agenezie corp calos* - 1 caz din lotul total (1,42%), ceea ce reprezintă 14,28% din cazurile cu tripatologie, sau 1,88% din totalul cazurilor cu *hidrocefalie* se asociază cu aceste alte 2 MCSN (respectiv asocierea cu alte 2 MCSN se observă pentru 12,5% din cazurile cu *meningomielocel* și pentru 16,66% din cazurile cu *agenezie a corpului calos* din lotul studiat); *chist cerebelar* + *craniostenoză* + *microcefalie* - 1 caz din lotul total (1,42%), ceea ce reprezintă 14,28% din cazurile cu tripatologie, sau 5,88% din totalul cazurilor cu *chist cerebral* se asociază cu aceste alte 2 MCSN (respectiv asocierea cu alte 2 MCSN

se observă pentru 8,33% din cazurile cu *craniostenoză* și pentru 14,28% din cazurile cu *microcefalie* din lotul studiat).

Rezultatele arată că cel mai frecvent tripatologia conține una dintre entitățile patologice *hidrocefalia* (6 cazuri), urmată de *hipogenezia corpului calos* (3 cazuri), *spina bifidă*/*sindromul Arnaud Chiari*/*microcefalia*/*chistul cerebral* (2 cazuri), *atrofia*/*meningomielocelul*/*agenezia corpului calos*/*craniostenoza* (1 caz). Putem menționa că, în eșantionul studiat, *sindromul Arnaud Chiari* s-a identificat doar în asociere cu *hidrocefalia* și *spina bifidă* ca parte a tripatologiei, iar *atrofia cerebelară* – doar în asociere cu *hidrocefalia* și *hipogenezia corpului calos*.

Mai putem menționa faptul că *spina bifidă* a fost asociată doar cu *hidrocefalia*, în majoritatea cazurilor ca bipatologie (75%) și mai rar ca tripatologie cu *sindromul Arnold Chiari* (25%). De asemenea, combinația *hidrocefalie+hipogenezia corpului calos* a fost identificată ca bipatologie, precum și ca tripatologie cu asocierea a diverse alte MCSN (*microcefalie*, *atrofie cerebelară*, *chist cerebelar*).

În baza rezultatelor obținute anterior privind asocierea diferiteloror MCSN, am realizat o analiză corelațională pentru a stabili probabilitatea acestor interrelații (figura 31).

După cum se vede în figura 31, în structura morbidității copiilor din eșantionul studiat se atestă o serie de asocieri între diferite MCSN și anume: cele mai multe corelații statistic semnificative s-au identificat pentru hidrocefalia congenitală, corelație pozitivă și moderată cu agenezia corpului calos (*rho* = 0,422; p <0,001), iar corelații negative și moderate – cu meningomielocelul congenital (*rho* = -0,53; p <0,001) și craniostenoza (*rho* = -0,45; p <0,001) și negativă slabă cu microcefalia (*rho* = -0,255; p <0,05). Hipogenezia corpului calos a relevat corelații statistic semnificative pozitive slabe cu atrofia cerebrală (*rho* = 0,393; p <0,001) și cu microcefalia (*rho* = 0,238; p <0,05). Între spina bifidă și sindromul Arnold Chiari se atestă o corelație statistic semnificativă pozitivă de putere moderată (*rho* = 0,477; p <0,001).

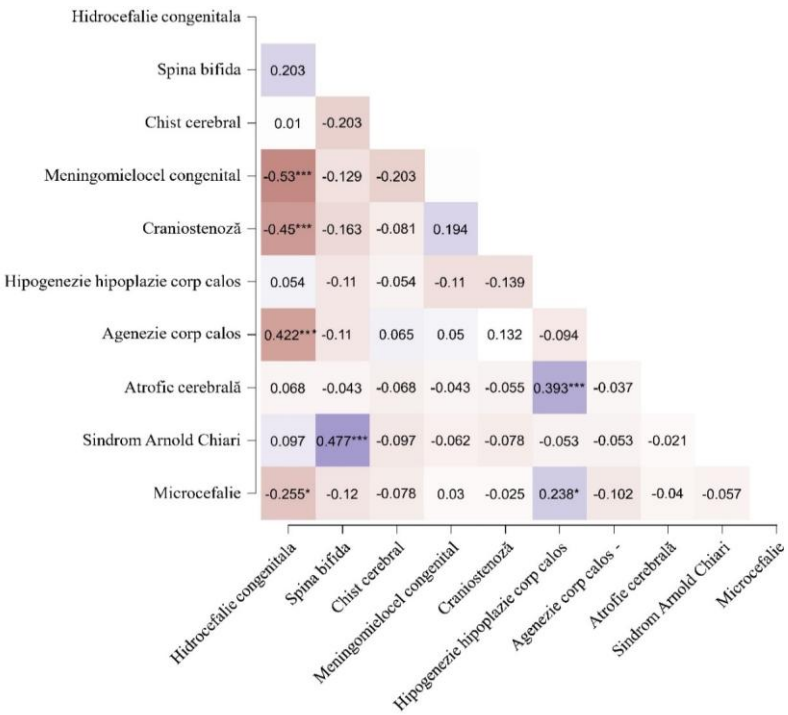


Figura 31. Matricea corelațiilor Spearman dintre MCSN în cadrul lotului studiat
*Notă: interpretarea nivelului de semnificație statistică a corelațiilor: *** - p <0,001; ** p - <0,01; * - p <0,05.*

Per general, s-a observat că intervalul privind puterea corelațiilor a fost restrâns (0,2-0,6), fapt ce demonstrează că între diferite MCSN în eșantionul studiat s-au identificat corelații slab-moderate. Pentru a determina care dintre MCSN au fost independente sau asociate cel mai frecvent, am verificat în baza PCA *(Principal Component Analysis)* modul lor de asociere factorial (figura 32). Astfel, se observă două potențiale *clustere* de MCSN, care au acești vectori apropiați (potențială coasociere clinică): 1) *agenezia corpului calos/meningomielocelul congenital/ craniostenoza*; 2) *spina bifidă/sindromul Arnold Chiari*. Aceste date au confirmat tendințele observate anterior privind distribuția diferitelor grade de morbiditate (mono-/bi-/tripatologie) la acești copii, însă aceste tendințe ar necesita verificare în studii epidemiologice pentru confirmare/infirmare.

Un alt aspect pe care l-am studiat a fost analiza amplă a structurii morbidității concomitente la copiii cu MCSN din eșantionul studiat (n = 70). În grupul de studiu (copii cu MCSN) s-au atestat următoarele frecvențe (aranjate ierarhic) ale patologiilor concomitente neurologice la copii: *epilepsie simptomatică* (41,43%) > *tetraplegie* (27,14%) > *retard psihomotor sever* (24,29%) > *paraplegie flască* (17,14%) > *tetrapareză* (12,86%) > *strabism congenital* (10%) > *edem cerebral* (5,71%) > *sindrom West* (4,29%) > *sindrom bulbar* (2,86%) > *hemiplegie spastică/hemipareză* (1,43%). Nu au fost înregistrate cazuri cu *paralizie cerebrală infantilă* în acest eșantion.

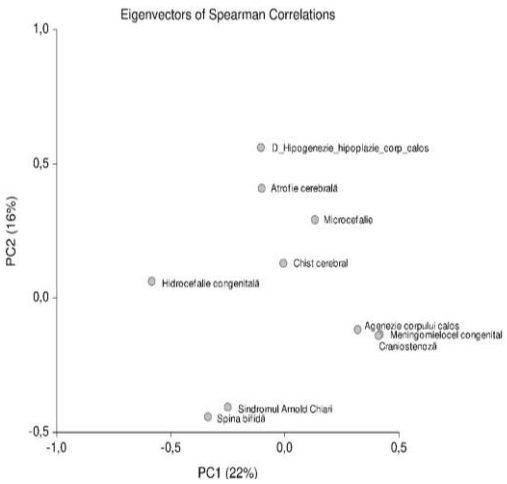


Figura 32. Tendințe de coasociere între formele de MCSN, evidențiate prin analiza PCA asupra corelațiilor Spearman

Doar la 11 copii (15,71%) lipseau patologii concomitente (PC), la ceilalți atestându-se: 1 PC (38,57%), 2 PC (32,86%), 3 PC (8,57%), 4 PC (2,86%), 5 PC (1,43%).

În cazul prezenței doar a unei forme de patologie de sine stătătoare/monopatologie concomitentă (n = 27), s-a observat următoarea ierarhie de frecvență: *epilepsie* - 9 cazuri din lotul total (12,85%), ceea ce reprezintă 33,33% din cazurile cu o singură patologie, iar 31,03% din totalul cazurilor cu *epilepsie* se manifestă singular, celelalte – în diferite combinații cu alte patologii concomitente (PC); *strabism* - 1 caz în lotul total (1,42%), ceea ce reprezintă 3,70% din cazurile cu o singură patologie, iar 14,28% din totalul cazurilor cu strabism se manifestă singular, celelalte – în diferite combinații cu alte PC; *retard psihomotor* - 8 cazuri din lotul total (11,42%), ceea ce reprezintă 29,62% din cazurile cu o singură patologie, sau 47,05% din totalul cazurilor cu retard psihomotor se manifestă singular, celelalte - în diferite combinații cu alte PC; *tetrapareză* – 1 caz în lotul total (1,42%), ceea ce reprezintă 3,70% din cazurile cu o singură patologie, iar 11,11% din totalul cazurilor cu tetrapareză se manifestă singular, celelalte - în diferite combinații cu alte PC; *tetraplegie* - 1 caz în lotul total (1,42%), ceea ce reprezintă 3,70% din cazurile cu o singură patologie, sau 5,26% din totalul cazurilor cu tetraplegie se manifestă singular, celelalte – în diferite combinații cu alte PC; *paraplezie flască* - 7 cazuri din lotul total (10%), ceea ce reprezintă 25,92% din cazurile cu o singură patologie, sau 58,33% din totalul cazurilor cu paraplezie flască se manifestă singular, celelalte - în diferite combinații cu alte patologii concomitente. Rezultatele relevă diferite tendințe pentru anumite patologii concomitente, astfel, *paraplegia flască* (58,33%) și *retardul psihomotor* (47,05%) s-au întâlnit cu o frecvență mai înaltă ca monopatologie concomitentă, urmate de *epilepsia simptomatică* (33,33%) decât alte PC (*tetrapareză, tetraplegie, strabism*). În același timp, este de menționat că o serie de patologii concomitente nu au fost observate de sine stătător ca monopatologie: edemul cerebral, sindromul bulbar, sindromul West, paralizia cerebrală, hemiplegia spastică, hemipareza (n=23).

În cazul prezenței a două forme de patologii concomitente (bipatologie, n = 23), s-a observat următoarea ierarhie de frecvență: *epilepsie* + *tetraplegie* - 10 cazuri din lotul total (14,28%), ceea ce reprezintă 43,47% din cazurile cu bipatologie concomitentă, iar 34,48% din totalul cazurilor cu *epilepsie* se asociază cu *tetraplegie* (respectiv 52,63% din cazurile cu *tetraplegie* se asociază cu *epilepsia*); *retard* + *paraplegie* - 3 cazuri din lotul total (4,28%), ceea ce reprezintă 13,04% din cazurile cu bipatologie concomitentă, iar 17,64% din totalul cazurilor cu *retard* se asociază cu *paraplegia* (respectiv 25% din cazurile cu *paraplegie* se asociază cu *retard*); *epilepsie* + *paraplegie* - 2 cazuri din lotul total (2,85%), ceea ce reprezintă 8,69% din cazurile cu bipatologie concomitentă, iar 6,89% din totalul cazurilor cu *epilepsie* se asociază cu *paraplegia* (respectiv 16,66% din cazurile cu *paraplegie* se asociază cu *epilepsia*); *retard* + *tetrapareză* - 2 cazuri din lotul total (2,85%), ceea ce reprezintă 8,69% din cazurile cu bipatologie concomitentă, iar 11,76% din totalul cazurilor cu *retard* se asociază cu *tetrapareza* (respectiv 22,22% din cazurile cu *tetrapareză* se asociază cu *retard*); *epilepsie* + *edem cerebral* - 1 caz din lotul total (1,42%), ceea ce reprezintă 4,34% din cazurile cu bipatologie concomitentă, iar 3,44% din totalul cazurilor cu *epilepsie* se asociază cu *edemul cerebral* (respectiv 25% din cazurile cu *edem cerebral* se asociază cu *epilepsie*); *epilepsie* + *tetrapareză* - 1 caz din lotul total (1,42%), ceea ce reprezintă 4,34% din cazurile cu bipatologie concomitentă, iar 3,44% din totalul cazurilor cu *epilepsie* se asociază cu *tetrapareza* (respectiv 11,11% din cazurile cu *tetrapareză* se asociază cu *epilepsia*); *retard* + *tetraplegie* - 1 caz din lotul total (1,42%), ceea ce reprezintă 4,34% din cazurile cu bipatologie concomitentă, iar 5,88% din totalul cazurilor cu *retard* se asociază cu *tetraplegia* (respectiv 5,26% din cazurile cu *tetraplegie* se asociază cu *retard*); *sindrom bulbar* + *tetraplegie* - 1 caz din lotul total (1,42%), ceea ce reprezintă 4,34% din cazurile cu bipatologie concomitentă, iar 50% din totalul cazurilor cu *sindrom bulbar* se asociază cu *tetraplegia* (respectiv 5,26% din cazurile cu *tetraplegie* se asociază cu *sindromul bulbar*); *strabism* + *tetraplegie* - 1 caz din lotul total (1,42%), ceea ce reprezintă 4,34% din cazurile cu bipatologie concomitentă, iar14,28% din totalul cazurilor cu *strabism* se asociază cu *tetraplegia* (respectiv 5,26% din cazurile cu *tetraplegie* se asociază cu *strabism*); *strabism* + *tetrapareză* - 1 caz din lotul total (1,42%), ceea ce reprezintă 4,34% din cazurile cu bipatologie concomitentă, iar 14,28% din totalul cazurilor cu *strabism* se asociază cu *tetrapareza* (respectiv 11,11% din cazurile cu *tetrapareză* se asociază cu *strabism*).

Rezultatele demonstrează că cea mai frecventă bipatologie concomitentă ca entitate a fost *epilepsia* (14 cazuri), urmată de *tetraplegie* (13 cazuri), *retard* (6 cazuri), *paraplegie* (5 cazuri), *tetrapareză* (4 cazuri), *strabism* (2 cazuri), *edemul cerebral/sindromul bulbar* (1 caz). Mai putem concluziona că în eșantionul studiat *sindromul West*, *hemiplegia* și *hemipareza* nu au fost observate ca elemente ale bipatologiei concomitente. În cazul prezenței mai multor forme de patologie concomitentă (>2 PC, n = 9) s-au observat o serie de combinații unice: *sindrom West* +

retard + tetraplegie (n = 1); *epilepsie + strabism + tetraplegie* (n = 1); *epilepsie + sindrom West + tetraplegie* (n = 1); *strabism + tetrapareză + tetraplegie* (n = 1); *epilepsie + edem cerebral + retard* (n = 1); *strabism + hemipareză + tetrapareză* (n = 1); *epilepsie + strabism + sindrom West + tetrapareză* (n = 1); *epilepsie + edem cerebral + sindrom bulbar + tetrapareză* (n = 1); *epilepsie + edem cerebral + retard + hemiplegie + tetraplegie* (n = 1). Rezultatele relevă că cel mai frecvent multipatologia concomitentă conține drept una dintre entitățile patologice: *epilepsia* (7 cazuri), urmată de *tetraplegie/strabism* (4 cazuri), *edem cerebral/retard/sindrom West/tetrapareză* (3 cazuri), *hemipareză/sindrom bulbar* (1 caz). Menționăm că în cadrul multipatologiei concomitente nu au fost înregistrate cazuri de prezență a *paraplegiei* și *hemiplegiei*. În baza tendințelor observate anterior privind asocierea diferitelor MCSN, am realizat o analiză corelațională pentru a stabili probabilitatea acestor interrelații (figura 33).

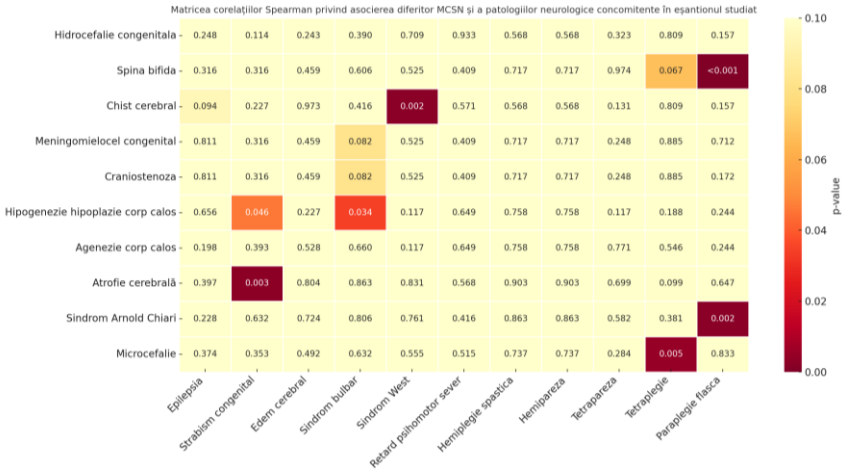


Figura 33. Matricea corelațiilor Spearman privind asocierea diferitelor MCSN și a patologiilor neurologice concomitente în eșantionul studiat

Astfel, între o serie de patologii MCSN și patologiile concomitente s-au observat asocieri statistic semnificative de diferită putere; astfel, corelații puternice: *spina bifidă - paraplegia flască* (*rho* = 0,671; p <0,001); corelații moderate: *atrofia cerebrală - strabismul congenital* (*rho* = 0,361; p = 0,003); *sindromul Arnold Chiari – paraplegia flască* (*rho* = 0,377; p = 0,002); *microcefalia - tetraplegia* (*rho* = 0,332; p = 0,005); corelații slabe: *hipogenezia/hipoplazia corpului calos - sindromul bulbar* (*rho* = 0,254; p = 0,034); *hipogenezia/hipoplazia corpului calos - strabismul congenital* (*rho* = 0,238; p = 0,046).

Per general, se evidențiază o scădere semnificativă a incidenței MCSN în RM, inclusiv a formelor folat-dependente, ceea ce demonstrează eficiența intervențiilor preventive. Rezultatele obținute ar contura un profil complex de factori sociodemografici, prenatali, materni/paterni asociați cu riscul de MCSN. La anumite patologii, datele din RM au depășit prevalența celor din țările europene din EUROCAT. Astfel, rezultatele obținute necesită extinderea cercetării pe eșantioane mai mari cu includerea și a altor componente (precum evaluarea genetică).

4. ANALIZA POLIMORFISMELOR GENELOR CICLULUI FOLATULUI LA MAMELE COPIILOR CU MALFORMAȚII CONGENITALE ALE SISTEMULUI NERVOS

Identificarea genotipurilor polimorfismelor MTHFR, MTR și MTRR (gene implicate în metabolismul folatului și în ciclul metilării - procese fundamentale pentru sinteza și repararea ADN-ului, precum și metilarea epigenetică) constituie o metodă precisă de evaluare molecular-genetică a relațiilor acestora cu statusul copiilor incluși în studiu (absența/prezența MCSN și a subtipurilor acestora). Astfel, pentru a investiga acest aspect, am realizat analiza statistică în următoarele subgrupuri:

- mamele copiilor fără MCSN (*control*, n = 70);
- mamele copiilor cu MCSN (*MCSN*, n = 70).

În grupul *MCSN* a fost evidențiat subgrupul *FMCSN*, constituit din mamele copiilor cu *MCSN* folat-dependente (*FMCSN*, n = 16). S-au realizat două comparații privind frecvența și asocierea polimorfismelor genetice ale genelor ciclului folatului (*MTHFR677*, *MTHFR1298*, *MTR2756* și *MTRR66*) și apartenența la subgrup:

- mamele copiilor cu MCSN versus mamele copiilor fără MCSN (*MCSN* vs *control*);
- mamele copiilor cu MCSN folat-dependente versus mamele copiilor fără MCSN (*FMCSN* vs *control*).

Rezultatele procesării datelor au fost redate per genă studiată. Dat fiind că grupul FMCSN este constituit dintr-un număr limitat de cazuri, s-a utilizat frecvent testul de simulare Monte-Carlo pentru estimarea rezultatelor în acest grup. Această situație restricționează generalizibilitatea rezultatelor sau elaborarea de concluzii deterministice. Totuși studiul a demonstrat fezabilitatea tehnicilor de procesare a datelor propuse, iar extinderea setului de date ar valida și mai mult rezultatele, în special realizarea unui studiu amplu multi-centric în regiune (Rep. Moldova, România, Ucraina, Bulgaria, Turcia). Această extindere ar permite explorarea unor modele mai complexe și ar îmbunătăți acuratețea diagnostică a metodelor propuse. Cu un eșantion extins, ar putea fi utilizate tehnici avansate (inclusiv *machine learning*) pentru a surprinde nuanțe mai subtile privind asocierea FMCSN cu diferiți factori de risc.

4.1. Distribuția și asocierea variantelor genei *MTHFR677* la mamele copiilor cu MCSN

Inițial, am investigat distribuția variantelor de genotip ale genei *MTHFR677* în grupurile menționate, observându-se o serie de diferențe (figura 34). În grupul de *control*, format din mamele copiilor fără *MCSN*, varianta de genotip CC a fost cea mai frecventă (77,1%), urmată de varianta CT (20,0%) și de varianta TT, observată în doar 2,9% din cazuri. În schimb, în grupul *MCSN* (mamele copiilor cu *MCSN*), distribuția genotipurilor a fost diferită; astfel, predominantă a fost varianta CT (45,7%,), urmată de varianta CC (38,6%) și TT, identificată în 15,7% din cazuri.

Aceste diferențe de distribuție ar indica o asociere între prezența *MCSN* și frecvența anumitor genotipuri, date cu semnificație statistică (χ^2 = 22,27; gl = 2; p = 1,46e-05). De asemenea, la evaluarea diferențelor de proporții în interiorul grupurilor, s-a observat că acestea diferă statistic semnificativ de proporțiile așteptate în grupul de *control* (χ^2 = 63,5; gl = 2; p = 1,591636e-14), precum și în *MCSN* (χ^2 = 10,3; gl = 2; p = 5,758128e-03).

În subgrupul *FMCSN* (mamele copiilor cu *MCSN* folat-dependente) s-a observat următoarea ierarhie a variantelor de genotip: CT (56,2%) > CC (37,5%) > TT (6,2%), cu diferențe semnificative privind proporțiile în cadrul grupului (χ^2 = 6,12; gl = 2; p = 4,677062e-02). În comparație cu grupul de *control*, unde s-au observat diferențe statistic semnificative privind distribuția variantelor de genotip (simulare Monte Carlo – 10.000 iterații, χ^2 = 9,76; p = 8,80e-03), ceea ce ar indica o asociere între prezența *FMCSN* și frecvența anumitor genotipuri.

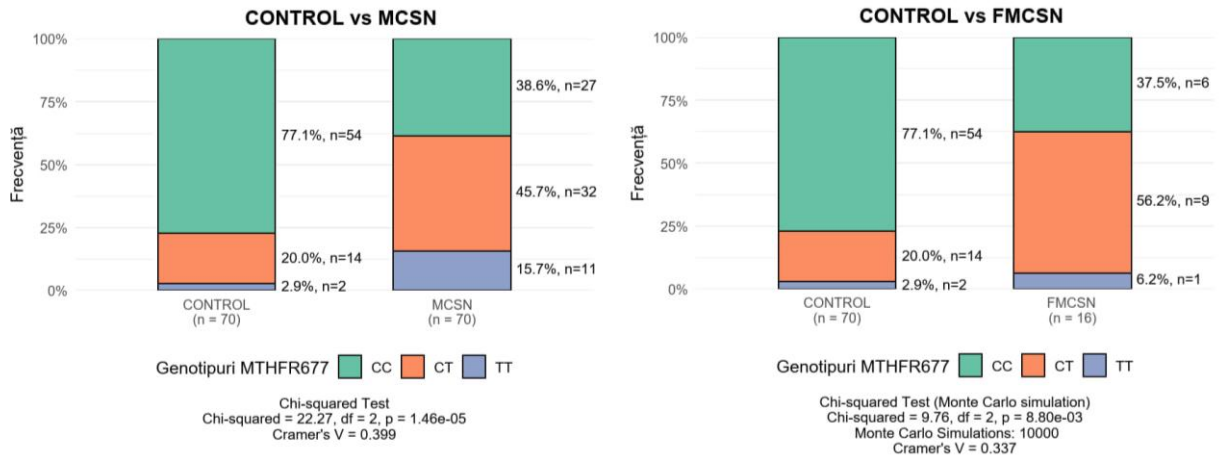


Figura 34. Distribuția variantelor de genotip ale *MTHFR677* la mamele copiilor incluși în studiu

Aceste rezultate ar indica o posibilă asociere între anumite variante genotipice ale *MTHFR677* la mame și riscul de a naște copii cu *MCSN*. În baza diferențelor de proporții privind diferite variante de genotip ale genelor examinate în grupurile studiate, am realizat analiza acestora în baza variațiilor de frecvență a alelelor și a diferitelor modele de moștenire (*multiplicativ, general, aditiv, dominant, recesiv*), cu efectuarea testului de echilibru după Hardy Weinberg (tabelele 4-5).

Pentru gena *MTHFR677* (tabelul 4), în grupurile studiate (*MCSN* vs *control*) s-a observat că atât în grupul de mame cu copii cu *MCSN*, cât și în lotul de *control* predomină alela C, însă cu o frecvență mai mare în lotul de *control* (n = 86 vs n = 122), pe când alela T se prezintă cu o frecvență mai mare în grupul *MCSN* (n = 54 vs n = 18). Conform *modelului multiplicativ de moștenire*, diferențele de proporții ale alelelor C și T comparate între grupuri au fost statistic semnificative (χ^2 = 24,23; p = 9,0e-07). Ulterior, în baza raportului șanselor (OR), am observat că aceste diferențe de proporții s-au bazat în majoritatea cazurilor pe frecvența mai sporită a alelei T în grupul de mame cu copii cu *MCSN*, acestea având o șansă statistic semnificativă de 4,26 ori mai mare de a

o deține față de mamele din grupul de *control* - IÎ$_{95\%}$ (2,33-7,76). În *modelul general de moștenire* s-a observat o distribuție diferită a genotipurilor CC, CT și TT între grupurile de mame ale copiilor cu absența/prezența *MCSN*. Astfel, după frecvență se observă următoarele: CC (total - 81 cazuri, predominant întâlnite în grupul de *control* - 54 vs 27 cazuri); CT (total - 46 cazuri, predominant întâlnite în grupul *MCSN* – 32 vs 14 cazuri); TT (total - 13 cazuri, predominant în *MCSN* - 11 vs 2 cazuri). Aceste diferențe au fost statistic semnificative (χ^2 = 22,27; p = 1,0e-05). Diferențele conform modelului general de moștenire au fost determinate predominant de diferența de proporții a frecvențelor genotipurilor CT și TT. Astfel, la mamele cu copii născuți cu *MCSN*, comparativ cu cele din lotul de *control*, s-au atestat rapoarte statistic semnificative ale șanselor de 6,34 ori mai mari de prezență a genotipului TT - IÎ$_{95\%}$ (1,35–29,76) și de 3,37 ori mai mari de prezență a genotipului CT - IÎ$_{95\%}$ (1,59-7,14). Evaluarea diferențelor precedente în baza testului Cochran-Armitage privind investigarea tendințelor liniare (*modelul aditiv de moștenire*) a confirmat semnificația statistică (χ^2 = 21,26; p = 4,0e-06).

Tabelul 4. Frecvența alelelor, modelele de moștenire și echilibrul Hardy Weinberg pentru gena MTHFR677 la mamele copiilor cu MCSN versus mamele copiilor fără MCSN

Gena	**Alelă/Genotip**	***MCSN***	***Control***	**Total**
MTHFR 677	Alela C	*86*	*122*	*208*
	Alela T	*54*	*18*	*72*
	Genotip CC	27	54	**81**
	Genotip CT	32	14	**46**
	Genotip TT	11	2	**13**
	Total	**70**	**70**	**140**

Alelă/Genotip	***MCSN* (n = 70)**	***Control* (n = 70)**	**χ^2**	***p***	**OR**	
					Valori	IÎ$_{95\%}$
Modelul multiplicativ de moștenire (testul χ^2, gl = 1)						
Alela C	0,614	0,871	24,23	**9,0e-07**	0,23	0,13–0,43
Alela T	0,386	0,129			4,26	2,33–7,76
Modelul general de moștenire (testul χ^2, gl = 2)						
Genotip CC	0,386	0,771	22,27	**1,0e-05**	0,19	0,09–0,39
Genotip CT	0,457	0,200			3,37	1,59–7,14
Genotip TT	0,157	0,029			6,34	1,35–29,76
Modelul aditiv de moștenire (Testul Cochran-Armitage pentru tendințe liniare)						
Genotip CC	0,386	0,771	21,26	**4,0e-06**	0,19	0,09–0,39
Genotip CT	0,457	0,200			3,37	1,59–7,14
Genotip TT	0,157	0,029			6,34	1,35–29,76
Modelul dominant de moștenire (testul χ^2, gl = 1)						
Genotip CC	0,386	0,771	21,36	**4,0e-06**	0,19	0,09–0,39
Genotip CT+TT	0,614	0,229			5,38	2,57–11,23
Modelul recesiv de moștenire (testul χ^2, gl = 1)						
Genotip CC+CT	0,843	0,971	6,87	**0,009**	0,16	0,03–0,74
Genotip TT	0,157	0,029			6,34	1,35–29,76

Testul Hardy-Weinberg

Genotip	***MCSN* (n =70)**	***Control* (n =70)**	**HWE**		**χ^2**		***p***	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Genotip CC	0,386	0,771	0,377	0,759	0,07	0,48	0,78	0,49
Genotip CT	0,457	0,200	0,474	0,224				
Genotip TT	0,157	0,029	0,149	0,017				

În baza *modelului dominant de moștenire*, varianta de genotip homozigotă CC a fost mult mai frecvent întâlnită în lotul de *control* față de grupul cu *MCSN* (77,1% vs 38,6%), pe când variantele care conțin alela T (homozigotă TT și heterozigotă CT) au fost mai des întâlnite la mamele copiilor cu *MCSN* (61,4% vs 22,9%), aceste diferențe de proporții fiind statistic semnificative (χ^2 = 21,36; p = 4,0e-06). Astfel, la mamele copiilor cu *MCSN* există o șansă statistic semnificativă de 5,38 ori mai mare de a fi prezentă o variantă a genei *MTHFR677* ce conține alela T – IÎ$_{95\%}$ (2,57-11,23). În baza *modelului recesiv de moștenire*, varianta de genotip homozigotă TT a fost mult mai frecvent întâlnită în lotul de mame cu copii cu *MCSN* față de grupul de *control* (15,7% vs 2,9%), pe când variantele ce conțin alela C (homozigot CC și heterozigot CT) au fost mai frecvent întâlnite în lotul de *control* față de *MCSN*, însă în ambele grupuri acestea reprezintă majoritatea cazurilor (cu *MCSN* - 84,3%, fără *MCSN* - 97,1%). Aceste diferențe de proporții au fost statistic semnificative (χ^2 = 6,87; p = 0,009); astfel, la mamele cu copii cu *MCSN* s-a observat o șansă statistic semnificativă de 6,34 ori mai mare de a prezenta varianta homozigotă TT a genei *MTHFR677* – IÎ$_{95\%}$ (1,35-29,76). Analiza realizată a confirmat asocierea dintre varianta de genotip a genei *MTHFR677* și apartenența de grup (absența/prezența *MCSN*), această relație fiind statistic semnificativă, indiferent de modelul de moștenire analizat (*multiplicativ, aditiv, general, dominant* sau *recesiv*). Este de menționat că pentru gena *MTHFR677* a fost respectat echilibrul Hardy-Weinberg în ambele grupuri (de *control* - p = 0,49; *MCSN* - p = 0,78).

Pentru gena *MTHFR677*, la evaluarea distribuției frecvențelor alelelor, genotipurilor și a modelelor de moștenire la mamele copiilor cu *MCSN* folat-dependente versus mamele celor fără *MCSN* (*FMCSN* vs *control*, tabelul 5), s-a observat că alela C predomină în ambele grupuri, însă cu o frecvență mai mare în grupul de *control* (n = 122; 87,1%) comparativ cu grupul *FMCSN* (n = 21; 65,6%). În schimb, alela T a fost mai frecventă în grupul *FMCSN* (n = 11; 34,4%) comparativ cu lotul de *control* (n = 18; 12,9%). Aceste diferențe au fost semnificative conform *modelului multiplicativ de moștenire* (χ^2 = 8,60; p = 0,003), sugerând o asociere între prezența *FMCSN* și frecvența alelei T (raportul șanselor semnificativ - OR = 3,55; IÎ$_{95\%}$: 1,47-8,57). Conform *modelului general de moștenire*, pentru genotipurile CC, CT și TT se observă diferențe statistic semnificative (χ^2 = 9,76; p = 0,008), cu următoarea distribuție între grupuri: genotipul CC a fost predominant în grupul de *control* (77,1%) comparativ cu *FMCSN* (37,5%) (raport al șanselor nesemnificativ – OR = 0,18; IÎ$_{95\%}$: 0,06–0,56); genotipul CT a fost mai frecvent în grupul *FMCSN* (56,3%) comparativ cu *control* (20,0%) (raport al șanselor semnificativ - OR = 5,14; IÎ$_{95\%}$: 1,63–16,21), iar genotipul TT a fost per general rar întâlnit în ambele grupuri, însă a fost mai frecvent în *FMCSN* (6,3%) comparativ cu *control* (2,9%) (raport al șanselor nesemnificativ - OR = 2,27; IÎ$_{95\%}$: 0,19-26,66). Analiza tendințelor liniare prin *modelul aditiv de moștenire* a confirmat

semnificația statistică a acestor diferențe (χ^2 = 8,22; p = 0,004).

După *modelul dominant*, variantele genotipice care includ alela T (CT+TT) au fost mai frecvente în grupul *FMCSN* (62,5%) comparativ cu lotul de *control* (22,9%), aceste diferențe fiind semnificative statistic (χ^2 = 9,70; p = 0,002; raport al șanselor semnificativ - OR = 5,63; IÎ$_{95\%}$: 1,77-17,87). După *modelul recesiv*, genotipul homozigot TT a fost mai frecvent în grupul *FMCSN* (6,3%) comparativ cu lotul de *control* (2,9%), însă diferențele nu au fost semnificative statistic (χ^2 = 0,45; p = 0,50; raport al șanselor nesemnificativ - OR = 2,27; IÎ$_{95\%}$: 0,19-26,66). Analiza echilibrului Hardy-Weinberg (HWE) relevă că distribuția genotipurilor a fost în echilibru în ambele grupuri (*control*: p = 0,49; *FMCSN*: p = 0,42).

Tabelul 5. Frecvența alelelor, modelele de moștenire și echilibrul Hardy Weinberg pentru gena MTHFR677 la mamele copiilor cu MCSN folat-dependente versus mamele copiilor fără MCSN

Gena	Alelă/Genotip	*FMCSN*	*Control*	Total
MTHFR 677	Alela C	*21*	*122*	*143*
	Alela T	*11*	*18*	*29*
	Genotip CC	6	54	**60**
	Genotip CT	9	14	**23**
	Genotip TT	1	2	**3**
	Total	**16**	**70**	**86**

Alelă/Genotip	*FMCSN* (n = 16)	*Control* (n = 70)	χ^2	*p*	OR Valori	OR IÎ$_{95\%}$
Modelul multiplicativ de moștenire (testul χ^2, gl = 1)						
Alela C	0,656	0,871	8,60	**0,003**	0,28	0,12–0,68
Alela T	0,344	0,129			3,55	1,47–8,57
Modelul general de moștenire (testul χ^2, gl = 2)						
Genotip CC	0,375	0,771	9,76	**0,008**	0,18	0,06–0,56
Genotip CT	0,563	0,200			5,14	1,63–16,21
Genotip TT	0,063	0,029			2,27	0,19–26,66
Modelul aditiv de moștenire (testul Cochran-Armitage pentru tendințe liniare)						
Genotip CC	0,375	0,771	8,22	**0,004**	0,18	0,06–0,56
Genotip CT	0,563	0,200			5,14	1,63–16,21
Genotip TT	0,063	0,029			2,27	0,19–26,66
Modelul dominant de moștenire (testul χ^2, gl = 1)						
Genotip CC	0,375	0,771	9,70	**0,002**	0,18	0,06–0,56
Genotip CT+TT	0,625	0,229			5,63	1,77–17,87
Modelul recesiv de moștenire (testul χ^2, gl = 1)						
Genotip CC+CT	0,938	0,971	0,45	0,5	0,44	0,04–5,19
Genotip TT	0,063	0,029			2,27	0,19–26,66

Testul Hardy-Weinberg

Genotip	*FMCSN* (n =16)	*Control* (n =70)	HWE		χ^2		*p*	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Genotip CC	0,375	0,771	0,431	0,759	0,66	0,48	0,42	0,49
Genotip CT	0,563	0,200	0,451	0,224				
Genotip TT	0,063	0,029	0,118	0,017				

4.2. Distribuția și asocierea variantelor genei *MTHFR1298* la mamele copiilor cu MCSN

Inițial am investigat distribuția variantelor de genotip ale genei *MTHFR1298* în grupurile menționate, observându-se o serie de diferențe (figura 35). În grupul de *control*, format din mamele copiilor fără *MCSN*, varianta de genotip AA a fost cea mai frecventă (84,3%), urmată de varianta AC (12,9%) și de varianta CC, observată în doar 2,9% din cazuri. În schimb, în grupul *MCSN* (mamele copiilor cu *MCSN*), ierarhia distribuției genotipurilor a fost similară, cu predominarea AA (54,3%,), urmată de varianta AC (42,9%) și CC, identificată în 2,9% din cazuri. Diferențele de frecvență indică o asociere între prezența *MCSN* și frecvența anumitor genotipuri, date semnificative statistic (simulare Monte Carlo - 10.000 iterații, χ^2 = 15,85; p = 1,00e-04). De asemenea, la evaluarea diferențelor de proporții în interiorul grupurilor, s-a observat că acestea diferă statistic semnificativ de proporțiile așteptate în grupul de *control* (χ^2 = 82,8; gl = 2; p = 1,032771e-18), precum și în *MCSN* (χ^2 = 30,6; gl = 2; p = 2,234036e-07).

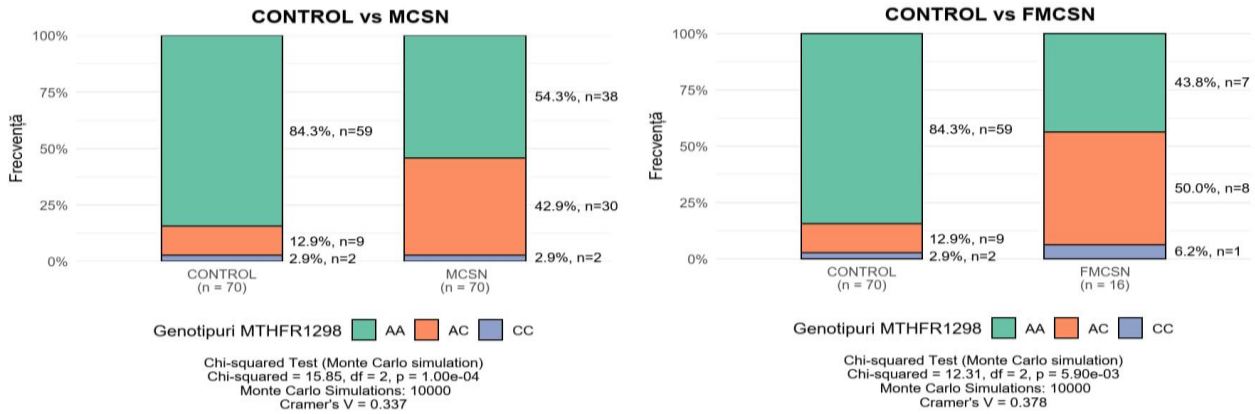


Figura 35. Distribuția variantelor de genotip ale *MTHFR1298* la mamele copiilor incluși în studiu

În subgrupul *FMCSN* (mamele copiilor cu *MCSN* folat-dependente) s-a observat următoarea ierarhie a variantelor de genotip: AC (50%) > AA (43,8%) > CC (6,2%), cu diferențe nesemnificative privind proporțiile în cadrul grupului (χ^2 = 5,38; gl = 2; p = 6,805085e-02). În comparație cu grupul de *control*, se observă diferențe statistic semnificative privind distribuția variantelor de genotip (simulare Monte Carlo – 10.000 iterații, χ^2 = 12,31; p = 5,90e-03), ceea ce relevă o asociere între prezența *FMCSN* și frecvența anumitor genotipuri ale *MTHFR1298*.

În baza diferențelor de proporții privind diferite variante de genotip ale genelor examinate în grupurile studiate, am realizat analiza acestora în baza variațiilor de frecvență a alelelor și a diferitelor modele de moștenire (*multiplicativ, general, aditiv, dominant, recesiv*), inclusiv cu efectuarea testului de echilibru după Hardy-Weinberg (tabelele 6-7).

Pentru gena *MTHFR1298* (tabelul 6), în grupurile studiate (*MCSN* vs *control*) s-a observat că atât în grupul de mame cu copii cu *MCSN*, cât și în cel de *control* predomină alela A, însă cu o

frecvență mai mare în lotul de *control* (n = 127 vs n = 106), pe când alela C se prezintă cu o frecvență mai mare în grupul *MCSN* (n = 34 vs n = 13). Conform *modelului multiplicativ de moștenire*, diferențele de proporții ale alelelor A și C observate între grupuri au fost statistic semnificative (χ^2 = 11,28; p = 0,0008). Ulterior, în baza raportului șanselor (OR), am constatat că aceste diferențe de proporții s-au bazat în majoritatea cazurilor pe frecvența mai sporită a alelei C în grupul de mame cu copii cu *MCSN*, acestea având o șansă statistic semnificativă de 3,13 ori mai mare de a o deține comparativ cu mamele din grupul de *control*, IÎ$_{95\%}$ (1,57–6,24).

Tabelul 6. Frecvența alelelor, modelele de moștenire și echilibrul Hardy-Weinberg pentru gena MTHFR1298 la mamele copiilor cu MCSN versus mamele copiilor fără MCSN

<table>
<tr><th>Gena</th><th>Alelă/Genotip</th><th colspan="3">MCSN</th><th colspan="2">Control</th><th>Total</th></tr>
<tr><td rowspan="30">MTHFR 1298</td><td>Alela A</td><td colspan="3">106</td><td colspan="2">127</td><td>233</td></tr>
<tr><td>Alela C</td><td colspan="3">34</td><td colspan="2">13</td><td>47</td></tr>
<tr><td>Genotip AA</td><td colspan="3">38</td><td colspan="2">59</td><td>97</td></tr>
<tr><td>Genotip AC</td><td colspan="3">30</td><td colspan="2">9</td><td>39</td></tr>
<tr><td>Genotip CC</td><td colspan="3">2</td><td colspan="2">2</td><td>4</td></tr>
<tr><td>Total</td><td colspan="3">70</td><td colspan="2">70</td><td>140</td></tr>
<tr><td>Alelă/Genotip</td><td>MCSN (n = 70)</td><td>Control (n = 70)</td><td>χ^2</td><td>p</td><td colspan="2">OR</td></tr>
<tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>Valori</td><td>IÎ$_{95\%}$</td></tr>
<tr><td colspan="8">Modelul multiplicativ de moștenire (testul χ^2, gl = 1)</td></tr>
<tr><td>Alela A</td><td>0,757</td><td>0,907</td><td rowspan="2">11,28</td><td rowspan="2">0,0008</td><td>0,32</td><td>0,16–0,64</td></tr>
<tr><td>Alela C</td><td>0,243</td><td>0,093</td><td>3,13</td><td>1,57–6,24</td></tr>
<tr><td colspan="8">Modelul general de moștenire (testul χ^2, gl = 2)</td></tr>
<tr><td>Genotip AA</td><td>0,543</td><td>0,843</td><td rowspan="3">15,85</td><td rowspan="3">0,0004</td><td>0,22</td><td>0,10–0,49</td></tr>
<tr><td>Genotip AC</td><td>0,429</td><td>0,129</td><td>5,08</td><td>2,18–11,83</td></tr>
<tr><td>Genotip CC</td><td>0,029</td><td>0,029</td><td>1,00</td><td>0,14– 7,31</td></tr>
<tr><td colspan="8">Modelul aditiv de moștenire (testul Cochran-Armitage pentru tendințe liniare)</td></tr>
<tr><td>Genotip AA</td><td>0,543</td><td>0,843</td><td rowspan="3">11,24</td><td rowspan="3">0,0008</td><td>0,22</td><td>0,10–0,49</td></tr>
<tr><td>Genotip AC</td><td>0,429</td><td>0,129</td><td>5,08</td><td>2,18–11,83</td></tr>
<tr><td>Genotip CC</td><td>0,029</td><td>0,029</td><td>1,00</td><td>0,14–7,31</td></tr>
<tr><td colspan="8">Modelul dominant de moștenire (testul χ^2, gl = 1)</td></tr>
<tr><td>Genotip AA</td><td>0,543</td><td>0,843</td><td rowspan="2">14,80</td><td rowspan="2">0,0001</td><td>0,22</td><td>0,10–0,49</td></tr>
<tr><td>Genotip AC+CC</td><td>0,457</td><td>0,157</td><td>4,52</td><td>2,04–10,02</td></tr>
<tr><td colspan="8">Modelul recesiv de moștenire (testul χ^2, gl = 1)</td></tr>
<tr><td>Genotip AA+AC</td><td>0,971</td><td>0,971</td><td rowspan="2">0,00</td><td rowspan="2">1</td><td>1,00</td><td>0,14–7,31</td></tr>
<tr><td>Genotip CC</td><td>0,029</td><td>0,029</td><td>1,00</td><td>0,14–7,31</td></tr>
<tr><td colspan="8">Testul Hardy-Weinberg</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Genotip</td><td>MCSN (n =70)</td><td>Control (n =70)</td><td colspan="2">HWE</td><td colspan="2">χ^2</td><td colspan="2">p</td></tr>
<tr><td>1</td><td>2</td><td>1</td><td>2</td><td>1</td><td>2</td><td>1</td><td>2</td></tr>
<tr><td>Genotip AA</td><td>0,543</td><td>0,843</td><td>0,573</td><td>0,823</td><td rowspan="3">1,00</td><td rowspan="3">0,76</td><td rowspan="3">0,32</td><td rowspan="3">0,38</td></tr>
<tr><td>Genotip AC</td><td>0,429</td><td>0,129</td><td>0,368</td><td>0,168</td></tr>
<tr><td>Genotip CC</td><td>0,029</td><td>0,029</td><td>0,059</td><td>0,009</td></tr>
</table>

În *modelul general de moștenire* s-a observat o distribuție diferită a genotipurilor AA, AC și CC între grupurile de mame ale copiilor cu absența/prezența MCSN. Astfel, după frecvență s-au observat următoarele: AA (total - 97 cazuri, predominant întâlnite în grupul de *control* - 59 vs 38

cazuri); AC (total - 39 cazuri, predominant întâlnite în grupul *MCSN* - 30 vs 9 cazuri); CC (total – 4 cazuri, valori similare în ambele grupuri - 2 cazuri). Aceste diferențe au fost statistic semnificative (χ^2 = 15,85; p = 0,0004). Diferențele conform *modelului general de moștenire* au fost determinate predominant de diferența de proporții a frecvențelor genotipului AC. Astfel, la mamele cu copii cu *MCSN*, față de cele din lotul de *control*, se atestă un raport al șanselor statistic semnificativ de 5,08 ori mai mare de prezență a acestuia (IÎ$_{95\%}$: 2,18-11,83). Evaluarea diferențelor precedente, în baza testului Cochran-Armitage privind investigarea tendințelor liniare (*modelul aditiv de moștenire*), a confirmat semnificația statistică (χ^2 = 11,24; p = 0,0008).

În baza *modelului dominant de moștenire*, varianta de genotip homozigotă AA a fost mult mai frecvent întâlnită în lotul de *control*, față de grupul cu *MCSN* (84,3% vs 54,3%), pe când variantele ce conțin alela C (homozigotă CC și heterozigotă AC) au fost mai des întâlnite la mamele copiilor cu *MCSN* (45,7% vs 15,7%), aceste diferențe de proporții fiind statistic semnificative (χ^2 = 14,80; p = 0,0001). Astfel, la mamele copiilor cu *MCSN* există o șansă statistic semnificativă de 4,52 ori mai mare de a fi prezentă o variantă a genei *MTHFR677* ce conține alela C - IÎ$_{95\%}$ (2,04-10,02). În baza *modelului recesiv de moștenire*, varianta de genotip homozigotă CC a fost la fel de frecventă în ambele loturi (2,9%), inclusiv aceeași similaritate se observă pentru genotipurile ce conțin alela A (homozigot AA și heterozigot AC, 97,1%), fără diferențe statistic semnificative (χ^2 = 0,00; p = 1). Analiza realizată a confirmat asocierea dintre varianta de genotip a genei *MTHFR1298* și apartenența de grup (absența/prezența *MCSN*), această relație fiind statistic semnificativă în baza modelelor *multiplicativ/aditiv/general/dominant* de moștenire, dar nu și a celui *recesiv*. De notat că pentru gena *MTHFR1298* a fost respectat echilibrul Hardy-Weinberg în ambele grupuri (*control* - p = 0,38; *MCSN* - p = 0,32).

Pentru gena *MTHFR1298*, la evaluarea distribuției frecvențelor alelelor, genotipurilor și modelelor de moștenire la mamele copiilor cu *MCSN* folat-dependente versus mamele celor fără *MCSN* (*FMCSN* vs *control*, tabelul 7), s-a stabilit că alela A predomină în ambele grupuri, însă cu o frecvență sporită în grupul de *control* (n = 127; 90,7%), comparativ cu grupul *FMCSN* (n = 22; 68,8%), iar alela C a fost mai frecventă în grupul *FMCSN* (n = 10; 31,3%), comparativ cu lotul de *control* (n = 13; 9,3%), aceste diferențe au fost semnificative statistic conform *modelului multiplicativ de moștenire* (χ^2 = 10,85; p = 0,001), ceea ce ar indica o asociere între prezența *FMCSN* și frecvența sporită a alelei C la mame (raport al șanselor semnificativ - OR = 4,44; IÎ$_{95\%}$: 1,73-11,37).

Conform *modelului general de moștenire*, genotipurile AA, AC și CC prezintă diferențe statistic semnificative (χ^2 = 12,31; p = 0,002), cu următoarea distribuție între grupuri: în cel de *control*, genotipul AA a fost mai frecvent (84,3%), comparativ cu *FMCSN* (43,8%), (raport nesemnificativ al șanselor - OR = 0,15; IÎ$_{95\%}$: 0,04-0,47); genotipul AC a fost mai frecvent în

grupul *FMCSN* (50%) versus cel de *control* (12,9%), (raport al șanselor semnificativ – OR = 6,78; IÎ$_{95\%}$: 2,03-22,60); genotipul CC a fost rar întâlnit în ambele loturi: *control* (2,9%) versus *FMCSN* (6,3%), (raport nesemnificativ al șanselor - OR = 2,27; IÎ$_{95\%}$: 0,19-26,66). Analiza tendințelor liniare prin *modelul aditiv de moștenire* a confirmat semnificația statistică a acestor diferențe (χ^2 = 9,46; p = 0,002).

Tabelul 7. Frecvența alelelor, modelele de moștenire și echilibrul Hardy-Weinberg pentru gena MTHFR1298 la mamele copiilor cu MCSN folat-dependente versus mamele copiilor fără MCSN

Gena	Alelă/Genotip	*FMCSN*	*Control*	Total
MTHFR 1298	Alela A	*22*	*127*	*149*
	Alela C	*10*	*13*	*23*
	Genotip AA	7	59	**66**
	Genotip AC	8	9	**17**
	Genotip CC	1	2	**3**
	Total	**16**	**70**	**86**

Alelă/Genotip	*FMCSN* (n = 16)	*Control* (n = 70)	χ^2	*p*	OR Valori	OR IÎ$_{95\%}$
Modelul multiplicativ de moștenire (testul χ^2, gl = 1)						
Alela A	0,688	0,907	10,85	**0,001**	0,23	0,09–0,58
Alela C	0,313	0,093			4,44	1,73–11,37
Modelul general de moștenire (testul χ^2, gl = 2)						
Genotip AA	0,438	0,843	12,31	**0,002**	0,15	0,04–0,47
Genotip AC	0,500	0,129			6,78	2,03–22,60
Genotip CC	0,063	0,029			2,27	0,19–26,66
Modelul aditiv de moștenire (testul Cochran-Armitage pentru tendințe liniare)						
Genotip AA	0,438	0,843	9,46	**0,002**	0,15	0,04–0,47
Genotip AC	0,500	0,129			6,78	2,03–22,60
Genotip CC	0,063	0,029			2,27	0,19–26,66
Modelul dominant de moștenire (testul χ^2, gl = 1)						
Genotip AA	0,438	0,843	11,99	**0,0005**	0,15	0,04–0,47
Genotip AC+CC	0,563	0,157			6,90	2,12–22,42
Modelul recesiv de moștenire (testul χ^2, gl = 1)						
Genotip AA+AC	0,938	0,971	0,45	0,5	0,44	0,04–5,19
Genotip CC	0,063	0,029			2,27	0,19–26,66

Testul Hardy-Weinberg

Genotip	*FMCSN* (n =16)	*Control* (n =70)	HWE		χ^2		*p*	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Genotip CC	0,438	0,843	0,473	0,823	0,44	0,76	0,51	0,38
Genotip CT	0,500	0,129	0,430	0,168				
Genotip TT	0,063	0,029	0,098	0,009				

După *modelul dominant*, variantele genotipice care includ alela C (AC+CC) au fost mai frecvente în grupul *FMCSN* (56,3%), comparativ cu lotul de *control* (15,7%), aceste diferențe fiind semnificative statistic (χ^2 = 11,99; p = 0,0005; raportul șanselor a fost semnificativ - OR = 6,90; IÎ$_{95\%}$: 2,12–22,42). După *modelul recesiv*, genotipul homozigot CC se întâlnește mai frecvent în grupul de *control* (2,9%), comparativ cu *FMCSN* (6,3%), iar diferențele au fost nesemnificative

(χ^2 = 0,45; p = 0,5; raportul șanselor a fost nesemnificativ - OR = 2,27; IÎ$_{95\%}$: 0,19-26,66). Analiza echilibrului Hardy-Weinberg (HWE) arată că distribuția genotipurilor a fost în echilibru în ambele grupuri (*control*: p = 0,38; *FMCSN*: p = 0,51).

4.3. Distribuția și asocierea variantelor genei *MTR2756* la mamele copiilor cu MCSN

Mai întâi am investigat distribuția variantelor de genotip ale genei *MTR2756* în grupurile menționate, observându-se o serie de diferențe (figura 36). În grupul de *control*, format din mamele copiilor fără *MCSN*, varianta de genotip AA a fost cea mai frecventă (81,4%), urmată de varianta AG (17,1%) și de varianta GG, observată în doar 1,4% din cazuri. În grupul *MCSN* (mamele copiilor cu *MCSN*), ierarhia distribuției genotipurilor a fost similară, cu predominarea AA (55,7%), urmată de varianta AG (41,4%) și GG, identificată în 2,9% din cazuri. Diferențele de frecvență relevă o asociere între prezența *MCSN* și frecvența anumitor genotipuri, semnificativă statistic (simulare Monte Carlo - 10.000 iterații, χ^2 = 10,76; p = 2,50e-03). De asemenea, la evaluarea diferențelor de proporții în interiorul grupurilor, s-a observat că acestea diferă statistic semnificativ de proporțiile așteptate în grupul de *control* (χ^2 = 75,5; gl = 2; p = 4,118031e-17), precum și în *MCSN* (χ^2 = 31,4; gl = 2; p = 1,519066e-07).

În subgrupul *FMCSN* (mamele copiilor cu *MCSN* folat-dependente) s-a observat următoarea ierarhie a variantelor de genotip: AA (56,2%) > AG (43,8%) și lipsa GG (0%), cu diferențe semnificative privind proporțiile în cadrul grupului (χ^2 = 8,38; gl = 2; p = 1,51842e-02). În comparație cu grupul de *control*, se atestă diferențe statistic nesemnificative privind distribuția variantelor de genotip (simulare Monte Carlo - 10.000 iterații, χ^2 = 5,48; p = 8,99e-02), ceea ce relevă lipsa asocierii între prezența *FMCSN* și frecvența anumitor genotipuri ale *MTR2756*.

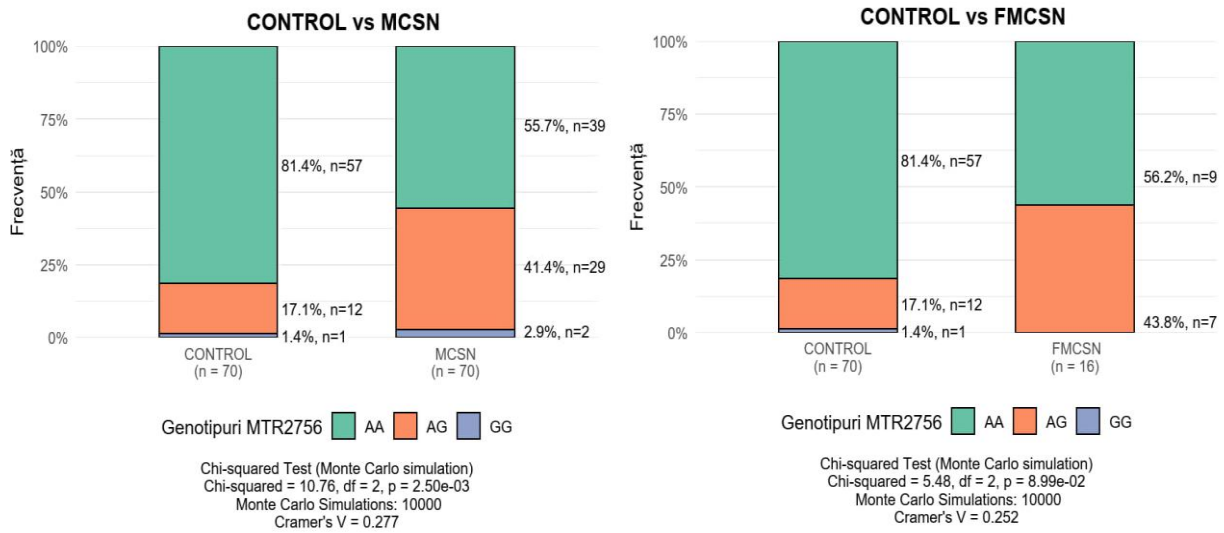


Figura 36. Distribuția variantelor de genotip ale *MTR2756* la mamele copiilor incluși în studiu

În baza diferențelor de proporții privind diferitele variante de genotip ale genelor examinate în grupurile studiate, am realizat analiza acestora în baza variațiilor de frecvență a alelelor și a

diferitelor modele de moștenire (*multiplicativ, general, aditiv, dominant, recesiv*), inclusiv cu efectuarea testului de echilibru după Hardy-Weinberg (tabelele 8-9).

Pentru gena *MTR2756* (tabelul 8), în grupurile studiate (*MCSN* vs *control*) s-a observat că atât în grupul de mame cu copii cu *MCSN*, cât și în lotul de *control* predomină alela A, însă cu o frecvență mai mare în lotul de *control* (n = 126 vs. n = 107), pe când alela G prezintă o frecvență mai mare în grupul *MCSN* (n = 33 vs n = 14). Conform *modelului multiplicativ de moștenire*, diferențele de proporții ale alelelor A și G constatate între grupuri au fost statistic semnificative (χ^2 = 9,23; p = 0,002). Ulterior, în baza raportului șanselor (OR), am observat că aceste diferențe s-au bazat, în majoritatea cazurilor, pe frecvența mai sporită a alelei G în grupul de mame cu copii cu *MCSN*, acestea având o șansă statistic semnificativă de 2,78 ori mai mare de a o deține față de mamele din grupul de *control* - $IÎ_{95\%}$ (1,41–5,46).

Tabelul 8. Frecvența alelelor, modelele de moștenire și echilibrul Hardy-Weinberg pentru gena *MTR2756* la mamele copiilor cu MCSN versus mamele copiilor fără MCSN

Gena	Alelă/Genotip	*MCSN*	*Control*	Total
MTHFR 2756	Alela A	*107*	*126*	*233*
	Alela G	*33*	*14*	*47*
	Genotip AA	39	57	**96**
	Genotip AG	29	12	**41**
	Genotip GG	2	1	**3**
	Total	**70**	**70**	**140**

Alelă/Genotip	*MCSN* (n = 70)	*Control* (n = 70)	χ^2	*p*	OR Valori	OR $IÎ_{95\%}$
Modelul multiplicativ de moștenire (testul χ^2, gl = 1)						
Alela A	0,764	0,900	9,23	**0,002**	0,36	0,18–0,71
Alela G	0,236	0,100			2,78	1,41–5,46
Modelul general de moștenire (testul χ^2, gl = 2)						
Genotip AA	0,557	0,814	10,76	**0,005**	0,29	0,13–0,62
Genotip AG	0,414	0,171			3,42	1,56–7,48
Genotip GG	0,029	0,014			2,03	0,18–22,91
Modelul aditiv de moștenire (testul Cochran-Armitage pentru tendințe liniare)						
Genotip AA	0,557	0,814	9,70	**0,002**	0,29	0,13–0,62
Genotip AG	0,414	0,171			3,42	1,56–7,48
Genotip GG	0,029	0,014			2,03	0,18–22,91
Modelul dominant de moștenire (testul χ^2, gl = 1)						
Genotip AA	0,557	0,814	10,74	**0,001**	0,29	0,13–0,62
Genotip AG+GG	0,443	0,186			3,49	1,62–7,49
Modelul recesiv de moștenire (testul χ^2, gl = 1)						
Genotip AA+AG	0,971	0,986	0,34	0,56	0,49	0,04–5,56
Genotip GG	0,029	0,014			2,03	0,18–22,91

Testul Hardy-Weinberg

Genotip	*MCSN* (n =70)	*Control* (n =70)	HWE		χ^2		*p*	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Genotip AA	0,557	0,814	0,584	0,810	1,01	0,03	0,31	0,86
Genotip AG	0,414	0,171	0,360	0,180				
Genotip GG	0,029	0,014	0,056	0,010				

În *modelul general de moștenire* s-a observat o distribuție diferită a genotipurilor AA, AG și GG între grupurile de mame ale copiilor cu absența/prezența *MCSN*, iar după frecvență se observă următoarele: AA (total - 96 cazuri, predominant întâlnite în grupul de *control* - 57 vs 39 cazuri); AG (total - 41 cazuri, predominant întâlnite în grupul *MCSN* - 29 vs 12 cazuri); GG (total - 3 cazuri, predominant întâlnite în grupul *MCSN* - 2 vs 1 cazuri). Aceste diferențe au fost statistic semnificative (χ^2 = 10,76; p = 0,005). Diferențele conform *modelului general de moștenire* au fost determinate predominant de diferența de proporții a frecvențelor genotipurilor AG și GG. Astfel, la mamele cu copii cu *MCSN* față de cele din lotul de *control* se atestă un raport al șanselor statistic semnificativ de 3,42 ori mai mare de prezență a AG ($IÎ_{95\%}$: 2,18-11,83) și unul nesemnificativ, de 2,03 ori mai mare, de prezență a GG ($IÎ_{95\%}$: 0,18-22,91). Evaluarea diferențelor în baza testului Cochran-Armitage privind investigarea tendințelor liniare (*modelul aditiv de moștenire*) a confirmat semnificația statistică (χ^2 = 9,70; p = 0,002).

În baza *modelului dominant de moștenire*, varianta de genotip homozigotă AA a fost mult mai frecvent întâlnită în lotul de *control* versus grupul cu *MCSN* (81,4% vs 55,7%), pe când variantele care conțin alela G (homozigotă GG și heterozigotă AG) au fost mai des întâlnite la mamele copiilor cu *MCSN* (44,3% vs 18,6%), diferențele de proporții fiind statistic semnificative (χ^2 = 10,74; p = 0,001), deci, la mamele copiilor cu *MCSN* a fost o șansă statistic semnificativă de 3,49 ori mai mare de a fi prezentă o variantă a genei *MTHFR677* ce conține alela G - $IÎ_{95\%}$ (1,62–7,49). În baza *modelului recesiv de moștenire*, varianta de genotip homozigotă GG are o frecvență redusă în ambele loturi (2,9% în *MCSN* și 1,4% în grupul de *control*, raport al șanselor nesemnificativ – OR = 2,03; $IÎ_{95\%}$: 0,18-22,91), inclusiv frecvențe relativ similare se observă pentru genotipurile ce conțin alela A (homozigot AA și heterozigot AG, 97,1% în *MCSN* și 98,6% în grupul de *control*), fără diferențe statistic semnificative (χ^2 = 0,34; p = 0,56).

Analiza realizată a confirmat asocierea dintre varianta de genotip al genei *MTR2756* și apartenența de grup (absența/prezența *MCSN*), această relație fiind statistic semnificativă în baza modelelor *multiplicativ/aditiv/general/dominant* de moștenire, dar nu și a celui *recesiv*. De notat că pentru gena *MTR2756* a fost respectat echilibrul Hardy-Weinberg în ambele grupuri (*control* - p = 0,86; *MCSN* – p = 0,31).

Pentru gena *MTR2756*, la evaluarea distribuției frecvențelor alelelor, genotipurilor și modelelor de moștenire la mamele copiilor cu *MCSN* folat-dependente versus mamele copiilor fără *MCSN* (*FMCSN* vs *control*, tabelul 9), s-a stabilit că alela A predomină în ambele grupuri, însă cu o frecvență sporită în cel de *control* (n = 126, 90%), comparativ cu *FMCSN* (n = 25; 78,1%), iar alela G a fost mai frecventă în grupul *FMCSN* (n = 7; 21,9%), comparativ cu lotul de *control* (n = 14; 10%), aceste diferențe nu au fost însă semnificative statistic conform *modelului multiplicativ de moștenire* (χ^2 = 3,43; p = 0,06), ceea ce nu ar indica o asociere între prezența

FMCSN și frecvența sporită a alelei G la mame, în ciuda șansei mai mari de prezență a acesteia (raport al șanselor nesemnificativ - OR = 2,52; IÎ$_{95\%}$: 0,92–6,88).

Tabelul 9. Frecvența alelelor, modelele de moștenire și echilibrul Hardy-Weinberg pentru gena *MTR2756* la mamele copiilor cu MCSN folat-dependente versus mamele copiilor fără MCSN

Gena	Alelă/Genotip	*FMCSN*	*Control*	Total
MTHFR 2756	Alela A	*25*	*126*	*151*
	Alela G	*7*	*14*	*21*
	Genotip AA	9	57	**66**
	Genotip AG	7	12	**19**
	Genotip GG	0	1	**1**
	Total	**16**	**70**	**84**

Alelă/Genotip	*FMCSN* (n = 16)	*Control* (n = 70)	χ^2	*p*	OR Valori	OR IÎ$_{95\%}$
Modelul multiplicativ de moștenire (testul χ^2, gl = 1)						
Alela A	0,781	0,900	3,43	0,06	0,40	0,15–1,08
Alela G	0,219	0,100			2,52	0,92–6,88
Modelul general de moștenire (testul χ^2, gl = 2)						
Genotip AA	0,563	0,814	5,48	0,06	0,29	0,09–0,93
Genotip AG	0,438	0,171			3,76	1,17–12,08
Genotip GG	0,000	0,014			1,40	0,05–36,04
Modelul aditiv de moștenire (testul Cochran-Armitage pentru tendințe liniare)						
Genotip AA	0,563	0,814	3,53	0,06	0,29	0,09–0,93
Genotip AG	0,438	0,171			3,76	1,17–12,08
Genotip GG	0,000	0,014			1,40	0,05–36,04
Modelul dominant de moștenire (testul χ^2, gl = 1)						
Genotip AA	0,563	0,814	4,63	**0,03**	0,29	0,09–0,93
Genotip AG+GG	0,438	0,186			3,41	1,07–10,85
Modelul recesiv de moștenire (testul χ^2, gl = 1)						
Genotip AA+AG	1,000	0,986	0,23	0,63	0,71	0,03–18,28
Genotip GG	0,000	0,014			1,40	0,05–36,04

Testul Hardy-Weinberg

Genotip	*FMCSN* (n =16)	*Control* (n =70)	HWE		χ^2		*p*	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Genotip AA	0,563	0,814	0,610	0,810	1,39	0,03	0,24	0,86
Genotip AG	0,438	0,171	0,342	0,180				
Genotip GG	0,000	0,014	0,048	0,010				

Conform *modelului general de moștenire*, genotipurile AA, AG și GG prezintă diferențe statistic nesemnificative (χ^2 = 5,48; p = 0,06), cu următoarea distribuție între grupuri: în grupul de *control*, genotipul AA a fost atestat mai frecvent (81,4%), comparativ cu *FMCSN* (56,3%), (raport al șanselor nesemnificativ - OR = 0,29; IÎ$_{95\%}$: 0,09-0,93); genotipul AG a fost mai frecvent în grupul *FMCSN* (43,8%) versus cel de *control* (17,1%), (raport al șanselor semnificativ - OR = 3,76; IÎ$_{95\%}$: 1,17-12,08); genotipul GG a fost întâlnit doar în lotul de *control* (1,4%) (raport al șanselor nesemnificativ - OR = 1,40; IÎ$_{95\%}$: 0,05-36,04). Analiza tendințelor liniare prin *modelul aditiv de moștenire* a confirmat lipsa semnificației statistice (χ^2 = 3,53; p = 0,06). După *modelul*

dominant, variantele genotipice care includ alela G (AG+GG) au fost mai frecvente în grupul *FMCSN* (43,8%), comparativ cu lotul de *control* (18,6%), aceste diferențe fiind semnificative statistic (χ^2 = 4,63; p = 0,03; raportul șanselor semnificativ - OR = 3,41; IÎ$_{95\%}$: 1,07-10,85). După *modelul recesiv*, genotipul homozigot GG a fost mai frecvent în grupul de *control* (1,4%), comparativ cu *FMCSN* (0%), iar diferențele au fost nesemnificative (χ^2 = 0,23; p = 0,63; raport al șanselor nesemnificativ - OR = 1,40; IÎ$_{95\%}$: 0,053-36,04). Analiza echilibrului Hardy-Weinberg (HWE) arată că distribuția genotipurilor a fost în echilibru în ambele grupuri (*control*: p = 0,86; *FMCSN*: p = 0,24).

4.4. Distribuția și asocierea variantelor genei *MTRR66* la mamele copiilor cu MCSN

Am investigat distribuția variantelor de genotip ale genei *MTRR66* în grupurile menționate, observând o serie de diferențe (figura 37). În grupul de *control*, format din mamele copiilor fără *MCSN*, varianta de genotip AA a fost cea mai frecventă (40,0%), urmată de varianta AG (38,6%) și de varianta GG (21,4%). În schimb, în grupul *MCSN* (mamele copiilor cu *MCSN*), ierarhia distribuției genotipurilor a fost diferită, cu predominarea AG (48,6%), urmată de GG (35,7%) și AA identificată în doar 15,7% din cazuri. Diferențele de frecvență relevă o asociere între prezența *MCSN* și frecvența anumitor genotipuri, semnificativă statistic (χ^2 = 10,71; gl = 2; p = 4,72e-03). La evaluarea diferențelor de proporții în interiorul grupurilor s-a observat că acestea nu diferă statistic semnificativ de proporțiile așteptate în grupul de *control* (χ^2 = 4,49; gl = 2; p = 1,061548e-01), dar au fost statistic semnificativ diferite în *MCSN* (χ^2 = 11,5; gl = 2; p = 3,160128e-03).

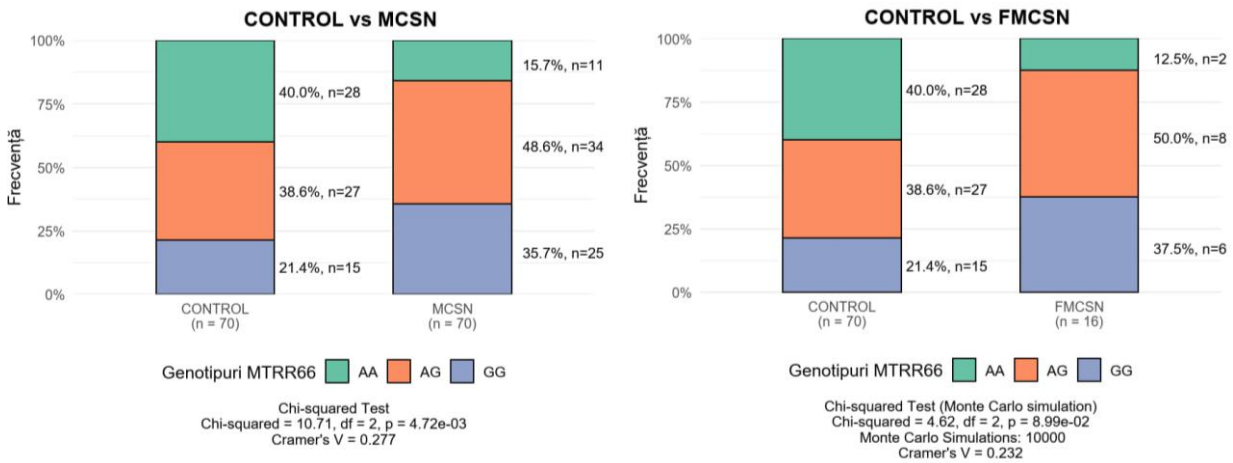


Figura 37. Distribuția variantelor de genotip ale *MTRR66* la mamele copiilor incluși în studiu

În subgrupul *FMCSN* (mamele copiilor cu *MCSN* folat-dependente) s-a observat următoarea ierarhie a variantelor de genotip: AG (50%) > GG (37,5%) > AA (12,5%), cu diferențe nesemnificative privind proporțiile în cadrul grupului (χ^2 = 3,5; gl = 2; p = 1,737739e-01). În comparație cu grupul de *control*, se observă diferențe statistic nesemnificative de distribuție a variantelor de genotip (simulare Monte Carlo - 10.000 iterații, χ^2 = 4,62; p = 8,99e-02), ceea ce

relevă o lipsă de asociere între prezența *FMCSN* și frecvența anumitor genotipuri a *MTRR66*.

Aceste rezultate ar indica o posibilă asociere între anumite variante genotipice ale *MTRR66* la mame și riscul de a naște copii cu *MCSN*, care ar necesita investigații ulterioare în alte studii.

În baza diferențelor de proporții ale diferitelor variante de genotip ale genelor examinate în grupurile studiate, am realizat analiza acestora în baza variațiilor de frecvență a alelelor și a diferitelor modele de moștenire (*multiplicativ, general, aditiv, dominant, recesiv*), inclusiv cu efectuarea testului de echilibru după Hardy-Weinberg (tabelele 10-11).

Tabelul 10. Frecvența alelelor, modelele de moștenire și echilibrul Hardy-Weinberg pentru gena *MTRR66* la mamele copiilor cu MCSN versus mamele copiilor fără MCSN

Gena	Alelă/Genotip	*MCSN*	*Control*	Total
MTRR 66	Alela A	*56*	*83*	*139*
	Alela G	*84*	*57*	*141*
	Genotip AA	11	28	**39**
	Genotip AG	34	27	**61**
	Genotip GG	25	15	**40**
	Total	**70**	**70**	**140**

Alelă/Genotip	*MCSN* (n = 70)	*Control* (n = 70)	χ^2	*p*	OR Valori	OR IÎ95%
Modelul multiplicativ de moștenire (testul χ^2, gl = 1)						
Alela A	0,400	0,593	10,41	0,001	0,46	0,28–0,74
Alela G	0,600	0,407			2,18	1,35–3,52
Modelul general de moștenire (testul χ^2, gl = 2)						
Genotip AA	0,157	0,400	10,71	0,005	0,28	0,13–0,62
Genotip AG	0,486	0,386			1,50	0,77–2,94
Genotip GG	0,357	0,214			2,04	0,96–4,32
Modelul aditiv de moștenire (testul Cochran-Armitage pentru tendințe liniare)						
Genotip AA	0,157	0,400	9,23	0,002	0,28	0,13–0,62
Genotip AG	0,486	0,386			1,50	0,77–2,94
Genotip GG	0,357	0,214			2,04	0,96–4,32
Modelul dominant de moștenire (testul χ^2, gl = 1)						
Genotip AA	0,157	0,400	10,27	0,001	0,28	0,13–0,62
Genotip AG+GG	0,843	0,600			3,58	1,60–7,97
Modelul recesiv de moștenire (testul χ^2, gl = 1)						
Genotip AA+AG	0,643	0,786	3,50	0,06	0,49	0,23–1,04
Genotip GG	0,357	0,214			2,04	0,96–4,32

Testul Hardy-Weinberg

Genotip	*MCSN* (n =70)	*Control* (n =70)	HWE		χ^2		*p*	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Genotip AA	0,157	0,400	0,160	0,351	0,00	1,30	1	0,25
Genotip AG	0,486	0,386	0,480	0,483				
Genotip GG	0,357	0,214	0,360	0,166				

Pentru gena *MTRR66* (tabelul 10), în grupurile studiate (*MCSN* vs *control*) s-a observat că în grupul de mame cu copii cu *MCSN* predomină alela G (60%, n = 84 vs 40,7%, n = 57), pe când în lotul de *control* predomină alela A (59,3%, n = 83 vs 40%, n = 56). Conform *modelului*

multiplicativ de moștenire, diferențele de proporții ale alelelor A și G atestate în grupuri au fost statistic semnificative (χ^2 = 10,41; p = 0,001). Ulterior, în baza raportului șanselor (OR), am constatat că aceste diferențe s-au bazat, în majoritatea cazurilor, pe frecvența mai sporită a alelei G în grupul de mame cu copii cu *MCSN*, acestea având o șansă semnificativă statistic de 2,18 ori mai mare de a o deține față de mamele din grupul de *control* - IÎ$_{95\%}$ (1,35-3,52). În *modelul general de moștenire* s-a observat o distribuție diferită a genotipurilor AA, AG și GG între grupurile de mame ale copiilor cu absența/prezența *MCSN*. Astfel, după frecvență, se observă următoarele: AA (total – 39 cazuri, predominant întâlnite în grupul de *control* - 28 vs 11 cazuri); AG (total - 61 cazuri, predominant întâlnite în grupul *MCSN* - 34 vs 27 cazuri); GG (total - 40 cazuri, predominant întâlnite în grupul *MCSN* - 25 vs 15 cazuri). Aceste diferențe au fost statistic semnificative (χ^2 = 10,71; p = 0,005). Diferențele conform *modelului general de moștenire* au fost determinate predominant de diferența de proporții ale frecvențelor genotipurilor AG și GG, astfel, la mamele cu copii cu *MCSN*, față de cele din lotul de *control*, însă cu rapoartele șanselor nesemnificative statistic: OR de 1,50 ori mai mare de prezență a AG (IÎ$_{95\%}$: 0,77-2,94) și OR de 2,04 ori mai mare de prezență a GG (IÎ$_{95\%}$: 0,96-4,32). Evaluarea diferențelor precedente în baza testului Cochran-Armitage privind investigarea tendințelor liniare (*modelul aditiv de moștenire*) a confirmat semnificația statistică (χ^2 = 9,23; p = 0,002).

În baza *modelului dominant de moștenire*, varianta de genotip homozigotă AA a fost mult mai frecvent întâlnită în lotul de *control* decât în grupul cu *MCSN* (40,0% vs 15,7%), pe când variantele ce conțin alela G (homozigotă GG și heterozigotă AG) au fost mai des întâlnite la mamele copiilor cu *MCSN* (84,3% vs 60,0%), aceste diferențe de proporții fiind statistic semnificative (χ^2 = 10,27; p = 0,001). Astfel, mamele copiilor cu *MCSN* aveau o șansă semnificativă de 3,58 ori mai mare de a fi prezentă o variantă a genei *MTRR66* care conține alela G - IÎ$_{95\%}$ (1,60–7,97). În baza *modelului recesiv de moștenire*, varianta de genotip homozigotă GG are o frecvență mai mare la mamele cu copii bolnavi (35,7% în *MCSN* și 21,4% în grupul de *control*, raport al șanselor nesemnificativ - OR = 2,04; IÎ$_{95\%}$: 0,96–4,32), inclusiv se observă diferențe pentru genotipurile ce conțin alela A (homozigot AA și heterozigot AG, 64,3% în *MCSN* și 78,6% în grupul de *control*), însă fără semnificație statistică (χ^2 = 3,50; p = 0,06). Analiza realizată a confirmat asocierea dintre varianta de genotip a genei *MTRR66* și apartenența de grup (absența/prezența *MCSN*), această relație fiind statistic semnificativă în baza majorității modelelor de moștenire (*multiplicativ/aditiv/ general/dominant*). De notat că pentru gena *MTRR66* a fost respectat echilibrul Hardy-Weinberg în grupul *MCSN* (p = 1) și în cel de *control* (p = 0,25).

Pentru gena *MTRR66*, la evaluarea distribuției frecvențelor alelelor, genotipurilor și modelelor de moștenire la mamele copiilor cu *MCSN* folat-dependente versus cele ale copiilor fără *MCSN* (*FMCSN* vs *control*, tabelul 11), s-a observat că alela A predomină în grupul de *control* (n

= 83; 59,3%), comparativ cu grupul *FMCSN* (n = 12; 37,5%), pe când alela G are o frecvență sporită în grupul *FMCSN* (n = 20; 62,5%), comparativ cu cel de *control* (n = 57; 40,7%), aceste diferențe au fost semnificative statistic conform *modelului multiplicativ de moștenire* (χ^2 = 5,00; p = 0,03), ceea ce ar indica o asociere între prezența *FMCSN* și frecvența sporită a alelei G la mame (raport al șanselor semnificativ - OR = 2,43; IÎ$_{95\%}$: 1,10-5,35).

Tabelul 11. Frecvența alelelor, modelele de moștenire și echilibrul Hardy-Weinberg pentru gena *MTRR66* la mamele copiilor cu MCSN folat-dependente versus mamele copiilor fără MCSN

Gena	Alelă/Genotip	*FMCSN*	*Control*	Total
MTRR 66	Alela A	*12*	*83*	*95*
	Alela G	*20*	*57*	*77*
	Genotip AA	2	28	**30**
	Genotip AG	8	27	**35**
	Genotip GG	6	15	**21**
	Total	**16**	**70**	**86**

Alelă/Genotip	*FMCSN* (n = 16)	*Control* (n = 70)	χ^2	*p*	OR Valori	OR IÎ$_{95\%}$
Modelul multiplicativ de moștenire (testul χ^2, gl = 1)						
Alela A	0,375	0,593	5,00	0,03	0,41	0,19–0,91
Alela G	0,625	0,407			2,43	1,10–5,35
Modelul general de moștenire (testul χ^2, gl = 2)						
Genotip AA	0,125	0,400	4,62	0,1	0,21	0,05–1,02
Genotip AG	0,500	0,386			1,59	0,53–4,75
Genotip GG	0,375	0,214			2,20	0,69–7,03
Modelul aditiv de moștenire (testul Cochran-Armitage pentru tendințe liniare)						
Genotip AA	0,125	0,400	4,25	0,04	0,21	0,05–1,02
Genotip AG	0,500	0,386			1,59	0,53–4,75
Genotip GG	0,375	0,214			2,20	0,69–7,03
Modelul dominant de moștenire (testul χ^2, gl = 1)						
Genotip AA	0,125	0,400	4,34	0,04	0,21	0,05–1,02
Genotip AG+GG	0,875	0,600			4,67	0,98–22,14
Modelul recesiv de moștenire (testul χ^2, gl = 1)						
Genotip AA+AG	0,625	0,786	1,82	0,18	0,45	0,14–1,45
Genotip GG	0,375	0,214			2,20	0,69–7,03

Testul Hardy-Weinberg

Genotip	*FMCSN* (n =16)	*Control* (n =70)	HWE		χ^2		*p*	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Genotip AA	0,125	0,400	0,141	0,351	0,00	1,30	1	0,25
Genotip AG	0,500	0,386	0,469	0,483				
Genotip GG	0,375	0,214	0,391	0,166				

Conform *modelului general de moștenire*, genotipurile AA, AG și GG prezintă diferențe statistic nesemnificative (χ^2 = 4,62; p = 0,1), cu următoarea distribuție între grupuri: în grupul de *control*, genotipul AA a fost atestat mai frecvent (40,0%), comparativ cu *FMCSN* (12,5%), (raport al șanselor nesemnificativ - OR = 0,21; IÎ$_{95\%}$: 0,05-1,02); genotipul AG a fost mai frecvent în grupul *FMCSN* (50,0%), comparativ cu cel de *control* (38,6%), (raport al șanselor nesemnificativ

- OR = 1,59; IÎ$_{95\%}$: 0,53-4,75); genotipul GG a fost mai rar întâlnit în lotul de *control* (21,4%) versus grupul *FMCSN* (37,5%), (raport al șanselor nesemnificativ - OR = 2,20; IÎ$_{95\%}$: 0,69-7,03). Analiza tendințelor liniare prin *modelul aditiv de moștenire* relevă semnificația statistică a acestor diferențe (χ^2 = 4,25; p = 0,04). După *modelul dominant,* variantele genotipice care includ alela G (AG+GG) au fost mai frecvente în grupul *FMCSN* (87,5%), comparativ cu lotul de *control* (60,0%), aceste diferențe fiind semnificative statistic (χ^2 = 4,34; p = 0,04; raportul șanselor nesemnificativ - OR = 4,67; IÎ$_{95\%}$: 0,98-22,14). După *modelul recesiv,* genotipul homozigot GG a dominat în grupul *FMCSN* (37,5%), comparativ cu lotul de *control* (21,4%), iar diferențele au fost nesemnificative statistic (χ^2 = 1,82; p = 0,18; raportul șanselor nesemnificativ - OR = 2,20; IÎ$_{95\%}$: 0,69-7,03). Analiza echilibrului Hardy-Weinberg (HWE) arată că distribuția genotipurilor a fost în echilibru în grupul *FMCSN* (p = 1) și în cel de *control* (p = 0,25).

4.5. Evaluarea distribuției polimorfismului genelor ciclului folatului în diferite forme de MCSN

În baza rezultatelor obținute, am investigat ulterior particularitățile genotipurilor genelor ciclului folatului în diferite forme de MCSN (anexele 6-9), prelucrarea statistică efectuându-se cu determinarea gradului de asociere dintre subtipul de MCSN și particularitățile genotipului matern, precum și cu calculul raportului șanselor (versus mamele din grupul de control) și al intervalelor de încredere, modelul de moștenire studiat fiind cel general.

La mamele copiilor din grupul de control se atestă că gena *MTHFR677* prezintă următoarea distribuție a variantelor de genotip: CC (77,1%, n = 54); CT (20,0%, n = 14); TT (2,9%, n = 2), astfel, genotipurile „patologice” (de risc) CT și TT reprezintă 22,9% din cazuri. Ulterior, am analizat distribuția variantelor de genotip matern pentru gena *MTHFR677* (anexa 6), evaluând ponderea cumulativă a variantelor „patologice” (de risc), precum și riscurile prezentate de prezența acestora (riscul atribuibil și riscul relativ) per subtip de MCSN (anexa 10).

- În rândul mamelor copiilor cu *hidrocefalie congenitală*, distribuția genotipurilor a fost: CC 43,4% (n=23), CT 41,5% (n=22), TT 15,1% (n=8), astfel că purtătoarele alelei T (CT+TT) însumează 56,6%. Comparativ cu mamele din lotul de control, genotipul CC (referință) s-a asociat cu un efect protector (RR <1), fapt reflectat de un PAF (fracțiunea atribuibilă în populație a riscului) negativ (-147,64%). În schimb, genotipurile ce conțin alela T au fost asociate cu un risc crescut față de CC: RR = 1,72 pentru CT și RR = 2,01 pentru TT. Cumulat (CT+TT), prezența alelei T s-a asociat cu RR = 2,18; în rândul expuselor (mame purtătoare ale alelei T), proporția de cazuri atribuibilă expunerii a fost RA% = 54,2%.
- Mamele copiilor cu *spină bifidă*: CC și CT (fiecare câte 50%, n = 4). Deși numărul cazurilor a fost limitat, se poate constata că prezența genotipului normal CC la mame este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a fracțiunii atribuibile în populație a riscului (PAF = -

118,75%), pe când prezența variantei „patologice” CT ar prezenta un factor de risc (RR = 3,33). În numărul redus de cazuri examinate, nu au fost identificate situații cu copii cu spina bifidă și genotipul matern „patologic” TT, însă ajustarea după Haldane-Alscombe ar indica că aceasta ar fi un factor de risc (RR = 1,51). Aceste tendințe sunt limitate de dimensiunea eșantionului; intervalele de încredere (95%) includ 1, deci nu susțin semnificația statistică.

- Mamele copiilor cu *meningomielocel congenital*: CT (62,5%, n = 5); CC (25%, n =2); TT (12,5%, n = 1). Deși numărul cazurilor a fost limitat, se poate observa că prezența genotipului normal CC la mame este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF (-228,12%), pe când prezența variantei „patologice” CT a fost identificată ca factor de risc semnificativ (RR = 5,18). Cumulat (CT+TT), prezența alelei T s-a asociat cu RR = 7,64; în rândul expuselor (mame purtătoare ale alelei T), proporția de cazuri atribuibilă expunerii a fost RA% = 86,9%.
- Mamele copiilor cu *chist cerebral*: CT (47,1%, n = 8); CC (41,2%, n = 7); TT (11,8%, n = 2). Deși numărul cazurilor a fost limitat, se poate constata că prezența genotipului normal CC la mame este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF (-157,35%), pe când prezența variantei „patologice” CT a fost identificată ca factor de risc semnificativ (RR = 2,63). Cumulat (CT+TT), prezența alelei T s-a asociat cu RR = 3,35; în rândul femeilor expuse (mame purtătoare ale alelei T), proporția de cazuri atribuibilă expunerii a fost RA% = 70,2%.
- Mamele copiilor cu *craniostenoză*: CT (66,7%; n = 8); CC și TT (fiecare câte 16,7%, n = 2). Deși numărul cazurilor a fost mic, se poate deduce că prezența genotipului normal CC la mame este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF (-264,58%), iar variantele „patologice” prezente, care includ alela T (heterozigot CT și homozigot TT), au fost identificate ca factori de risc semnificativi (RR = 5,45, respectiv RR = 3,90). Cumulat (CT+TT), prezența alelei T s-a asociat cu RR = 10,77; în rândul expuselor (mame purtătoare ale alelei T), proporția de cazuri atribuibilă expunerii a fost RA% = 90,7%.
- Mamele copiilor cu *hipogenezie a corpului calos*: CC și CT (fiecare câte 50%, n = 3). Cu toate că numărul cazurilor a fost limitat, se observă că prezența genotipului normal CC la mame este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF (-118,75%), pe când variantele „patologice” prezente heterozigote CT, precum și TT (după ajustarea Haldane-Anscombe), au fost identificate ca factori de risc (RR = 3,47, respectiv 1,92), însă fără semnificație statistică (intervalul de încredere include 1). În numărul redus de cazuri examinate nu au fost identificate situații cu copii cu hipogenezia corpului calos și genotipul matern „patologic” TT.
- Mamele copiilor cu *agenezie a corpului calos*: CT (66,7%, n = 4); CC și TT (fiecare câte 16,7%, n = 1). Deși numărul cazurilor a fost limitat, se poate constata că prezența genotipului normal CC la mame este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF (-264,58%), pe când prezența variantei heterozigot CT a fost identificată ca factor de risc semnificativ (RR =

6,44). Cumulat (CT+TT), prezența alelei T s-a asociat cu o valoare semnificativă a RR = 13,10; în rândul expuselor (mame purtătoare ale alelei T), proporția de cazuri atribuibilă expunerii a fost RA% = 92,4%.

- Mamele copiilor cu *atrofie cerebrală*: CT (100%, n = 1). În perioada de colectare a datelor, a fost înregistrat un singur caz de atrofie cerebrală, prelucrarea statistică nu a relevat relații semnificative statistic.
- Mamele copiilor cu *sindrom Arnold-Chiari*: CC și CT (fiecare câte 50%, n = 1). Deși în perioada de colectare a datelor au fost înregistrate două cazuri, se poate observa că prezența genotipului normal CC la mame este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF (-118,75%), iar prezența variantei „patologice" heterozigote CT a fost identificată ca factor de risc nesemnificativ (RR = 3,80). În numărul redus de cazuri examinate, nu au fost identificate situații cu copii cu sindrom Arnold-Chiari și genotipul matern „patologic" TT.
- Mamele copiilor cu *microcefalie*: CC și CT (fiecare câte 42,9%, n = 3), TT (14,3%, n = 1). Deși numărul cazurilor a fost mic, se constată că prezența genotipului normal CC la mame este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF(-150%), pe când variantele „patologice" care includ alela T (heterozigot CT și homozigot TT) au fost identificate ca factori de risc (RR = 2,65, respectiv RR = 4,11), însă fără semnificație statistică (intervalul de încredere include valoarea 1). Cumulat (CT+TT), prezența alelei T s-a asociat cu RR = 3,80 (însă fără semnificație statistică); în rândul expuselor (mame purtătoare ale alelei T), proporția de cazuri atribuibilă expunerii a fost RA% = 73,7%.

Per general, se confirmă tendința observată anterior de pondere mai mare a genotipurilor ce conțin alela T la mamele copiilor cu diferite forme de MCSN, comparativ cu mamele copiilor din lotul de control, în special ponderea variantei heterozigote CT, care în majoritatea subtipurilor de MCSN din eșantionul de studiu a fost predominantă la mamele acestor copii.

Pentru a elucida acest fenomen, am explorat asocierile dintre variantele de genotip matern al genei cu subtipul de MCSN, fiind prezentate în continuare cazurile cu o șansă sporită (OR semnificativ). Astfel, în cazul mamelor copiilor cu *hidrocefalie congenitală*, se observă o distribuție diferită față de mamele celor din grupul de control, cu o frecvență mai înaltă a variantelor ce conțin alela T, precum heterozigotă CT (raport al șanselor semnificativ - OR = 2,84; $IÎ_{95\%}$: 1,27-6,32) și homozigotă TT (raport al șanselor semnificativ - OR = 6,04; $IÎ_{95\%}$: 1,23-29,78), diferențele fiind statistic semnificative (χ^2 = 15,81; p = 0,0004). La mamele copiilor cu *meningomielocel* se observă o distribuție diferită față de mamele copiilor din grupul de control, cu o frecvență mai înaltă a variantelor ce conțin alela T, în special heterozigotă CT (raport al șanselor semnificativ - OR = 6,67; $IÎ_{95\%}$: 1,42-31,30), diferențele fiind statistic semnificative (χ^2 = 9,78; p = 0,008). La mamele copiilor cu *chist cerebral* se observă o distribuție diferită față de cele ale

copiilor din grupul de control, cu o frecvență mai înaltă a variantelor ce conțin alela T, în special heterozigotă CT (raport al șanselor semnificativ - OR = 3,56; IÎ$_{95\%}$: 1,16-10,88), diferențele fiind statistic semnificative (χ^2 = 8,84; p = 0,01). La mamele copiilor cu *craniostenoză* se atestă o distribuție diferită, comparativ cu mamele celor din grupul de control, cu o frecvență mai înaltă a variantelor ce conțin alela T, în special heterozigotă CT (raport al șanselor semnificativ - OR = 8,00; IÎ$_{95\%}$: 2,10-30,42), diferențele fiind statistic semnificative (χ^2 = 17,81; p = 0,0001). La mamele copiilor cu *agenezie a corpului calos* se atestă o distribuție diferită versus mamele copiilor din grupul de control, cu o frecvență mai înaltă a variantelor ce conțin alela T, în special heterozigotă CT (raport al șanselor semnificativ - OR = 8,00; IÎ$_{95\%}$: 1,33-48,18), diferențele fiind statistic semnificative (χ^2 = 10,54; p = 0,005). Pentru celelalte comparații, în ciuda unor tendințe de diferențe de distribuție, nu s-a observat vreo semnificație statistică a diferențelor între MCSN-uri, precum și la comparația cu mamele copiilor din lotul de control.

La mamele copiilor din grupul de control, pentru gena *MTHFR1298* se observă următoarea distribuție a variantelor de genotip: AA (84,3%, n = 59); AC (12,9%, n = 9); CC (2,9%, n = 2), iar genotipurile „patologice" (de risc) AC și CC reprezintă 15,8% din cazuri. Ulterior, am analizat distribuția variantelor de genotip matern pentru gena *MTHFR1298* (anexa 7), evaluând ponderea cumulativă a variantelor „patologice" (de risc), precum și riscurile prezentate de prezența acestora (riscul atribuibil și riscul relativ) per subtip de MCSN (anexa 10).

- Mamele copiilor cu *hidrocefalie congenitală*: AA (58,5%, n = 31); AC (39,6%, n = 21); CC (1,9%, n = 1). Astfel, se poate observa că genotipurile de risc reprezintă în sumă 41,5%. Comparativ cu mamele copiilor din grupul de control, se observă că prezența genotipului normal AA este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF (-164,15%), pe când prezența la mame a variantei „patologice" heterozigoți AC a fost identificată ca factor de risc semnificativ (RR = 3,08). Este de notat că în lotul examinat s-a atestat un număr redus de cazuri cu genotip matern patologic CC. Cumulat (AC+CC), prezența alelei C s-a asociat cu RR = 1,94 (cu semnificație statistică); în rândul expuselor (mame purtătoare ale alelei C), proporția de cazuri atribuibilă expunerii a fost RA% = 48,3%.
- Mamele copiilor cu *spină bifidă*: AC (62,5%, n = 5), AA (37,5%, n = 3). Deși numărul cazurilor a fost limitat, se poate observa faptul că prezența genotipului normal AA la mame este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF (-297,72%), iar prezența variantei „patologice" AC reprezintă un factor de risc semnificativ (RR = 7,62). În numărul redus de cazuri examinate nu au fost identificate situații cu copii cu spină bifidă și genotipul matern „patologic" CC.
- Mamele copiilor cu *meningomielocel congenital*: AA (50%, n = 4), AC (37,5%, n = 3), CC (12,5%, n = 1). Cu toate că numărul cazurilor a fost mic, se poate constata că prezența

genotipului normal AA la mame este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF (-218,18%), pe când variantele „patologice” AC și CC au fost identificate ca factori de risc (RR = 3,30, respectiv RR = 3,57), însă fără semnificație statistică (intervalul de încredere include valoarea 1). Cumulat (AC+CC), prezența alelei C s-a asociat cu RR = 4,20 (cu semnificație statistică); în rândul expuselor (mame purtătoare ale alelei C), proporția de cazuri atribuibilă expunerii a fost RA% = 76,2%.

- Mamele copiilor cu *chist cerebral*: AC (58,8%, n = 10), AA (41,2%, n = 7). Deși numărul cazurilor a fost limitat, se observă că prezența genotipului normal AA la mame este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF (-274,33%), pe când prezența variantei „patologice” AC reprezintă un factor de risc semnificativ (RR = 5.11). În numărul redus de cazuri examinate, nu au fost identificați copii cu chist cerebral și genotipul matern „patologic” CC.
- Mamele copiilor cu *craniostenoză*: AA și AC (fiecare câte 50%, n = 6). Deși numărul cazurilor a fost mic, se constată că prezența genotipului normal AA la mame este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF (-218,18%), iar prezența variantei „patologice” AC reprezintă un factor de risc semnificativ (RR = 4.47). În numărul de cazuri examinate, nu au fost identificate situații cu copii având craniostenoză și genotipul matern „patologic” CC.
- Mamele copiilor cu *hipogenezie a corpului calos*: AC (50%, n = 3), AA (33,3%, n = 2) și CC (16.7%, n =1). Cu toate că numărul cazurilor a fost limitat, se poate observa că prezența genotipului normal AA la mame este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF (-324,24%), pe când prezența variantei „patologice” AC a fost identificată ca factor de risc semnificativ (RR = 5,33). Cumulat (AC+CC), prezența alelei C s-a asociat cu RR = 8,13 (cu semnificație statistică); în rândul expuselor (mame purtătoare ale alelei C), proporția de cazuri atribuibilă expunerii a fost RA% = 87,7%.
- Mamele copiilor cu *agenezie a corpului calos*: AA și AC (50%, n = 3). Deși numărul de cazuri a fost limitat, se poate constata că prezența genotipului normal AA la mame este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF (-218,18%), iar prezența variantei „patologice” AC este un factor de risc semnificativ (RR = 5,33). În numărul redus de cazuri examinate, nu au fost identificate situații cu copii cu agenezie de corp calos și genotipul matern „patologic” CC.
- Mamele copiilor cu *atrofie cerebrală*: AC (100%, n = 1). În perioada de colectare a datelor, a fost înregistrat un singur caz de atrofie cerebrală, iar prelucrarea statistică nu a relevat relații semnificative statistic.
- Mamele copiilor cu *sindrom Arnold-Chiari*: AC (100%, n = 2). În perioada de colectare a datelor, au fost constatate doar două cazuri, însă prelucrarea statistică nu a relevat relații statistic semnificative.
- Mamele copiilor cu *microcefalie*: AA și AC (fiecare câte 42,9%, n = 3), CC (14,3%, n = 1).

Deși numărul cazurilor a fost limitat, se poate observa că prezența genotipului normal AA la mame este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF (-263,63%), pe când prezența variantei „patologice" AC a fost identificată ca factor de risc semnificativ (RR = 4,06). Cumulat (AC+CC), prezența alelei C s-a asociat cu RR = 5,51 (cu semnificație statistică); în rândul expuselor (mame purtătoare ale alelei C), proporția de cazuri atribuibilă expunerii a fost RA% = 81,9%.

Per general, se confirmă tendința observată anterior de pondere mai mare a genotipurilor ce conțin alela C la mamele copiilor cu diferite forme de MCSN, comparativ cu mamele copiilor din lotul de control, în special a variantei heterozigoți AC, care în majoritatea subtipurilor de MCSN din eșantionul de studiu a prezentat o predominare la mamele acestor copii.

Pentru a elucida acest fenomen, am explorat asocierile dintre variantele de genotip matern ale genei cu subtipul de MCSN, fiind prezentate în continuare cazurile cu o șansă sporită (OR semnificativ). Astfel, în cazul mamelor copiilor cu *hidrocefalie congenitală*, se observă o distribuție diferită față de cele ale copiilor din grupul de control, cu o frecvență mai înaltă a variantei heterozigoți AC (raport al șanselor semnificativ - OR = 4,45; IÎ$_{95\%}$: 1,83-6,32), diferențele fiind statistic semnificative (χ^2 = 11,72; p = 0,003). În cazul mamelor copiilor cu *spină bifidă*, se atestă o distribuție diferită față de mamele copiilor din grupul de control, cu o frecvență mai înaltă a variantei heterozigoți AC (raport al șanselor semnificativ - OR = 11,30; IÎ$_{95\%}$: 2,30-55,58), diferențele fiind statistic semnificative (χ^2 = 12,06; p = 0,002). Mamele copiilor cu *chist cerebral* prezintă o distribuție diferită, comparativ cu mamele copiilor din grupul de control, cu o frecvență mai înaltă a variantei heterozigoți AC (raport al șanselor semnificativ - OR = 9,68; IÎ$_{95\%}$: 2,94-31,92), diferențele fiind statistic semnificative (χ^2 = 17,07; p = 0,0002). La mamele copiilor cu *craniostenoză* se atestă o distribuție diferită versus cele ale copiilor din grupul de control, cu o frecvență mai mare a variantei heterozigoți AC (raport al șanselor semnificativ - OR = 6,78; IÎ$_{95\%}$: 1,79-25,64), iar diferențele sunt statistic semnificative (χ^2 = 9,59; p = 0,008). La mamele copiilor cu *hipogenezie/hipoplazie a corpului calos* se observă o distribuție diferită față de mamele copiilor din grupul de control, cu o frecvență mai înaltă a variantei heterozigoți AC (raport al șanselor semnificativ - OR = 6,78; IÎ$_{95\%}$: 1,18-38,87), diferențele ating semnificația statistică (χ^2 = 9,29; p = 0,01). La mamele copiilor cu *agenezie a corpului calos* se atestă o distribuție diferită față de mamele celor din grupul de control, cu o frecvență mai înaltă a variantei heterozigoți AC (raport al șanselor semnificativ - OR = 6,78; IÎ$_{95\%}$: 1,18-38,87), diferențele nu au o semnificație statistică (χ^2 = 5,80; p = 0,06). La mamele copiilor cu *sindromul Arnold-Chiari* se observă o distribuție diferită față de mamele copiilor din grupul de control, cu o frecvență mai mare a variantei heterozigoți AC (raport al șanselor semnificativ - OR = 32,37; IÎ$_{95\%}$: 1,44-727,44), diferențele fiind statistic semnificative (χ^2 = 11,41; p = 0,003). La mamele copiilor cu *microcefalie* se constată o

distribuție diferită față de cele ale copiilor din grupul de control, cu o frecvență mai înaltă a variantelor ce conțin alela C - heterozigotă AC și homozigotă CC, diferențele fiind statistic semnificative (χ^2 = 7,16; p = 0,03), însă nu se atestă valori OR semnificative. Pentru celelalte comparații, în pofida unor tendințe de diferențe de distribuție, nu s-a observat vreo semnificație statistică a diferențelor între MCSN sau la comparația cu mamele copiilor din lotul de control.

La mamele copiilor din grupul de control, pentru gena *MTR2756* se observă următoarea distribuție a variantelor de genotip: AA (81,4%, n = 57), AG (17,1%, n = 12); GG (1,4%, n = 1), iar genotipurile „patologice" (de risc) AG și GG reprezintă în total 18,6% din cazuri. Ulterior, am analizat distribuția variantelor de genotip matern pentru gena *MTR2756* (anexa 8), evaluând ponderea cumulativă a variantelor „patologice" (de risc), precum și riscurile determinate de prezența acestora (riscul atribuibil și cel relativ) per subtip de MCSN (anexa 10).

- Mamele copiilor cu *hidrocefalie congenitală*: AA (54,7%, n = 29), AG (43,4%, n = 23), GG (1,9%, n = 1). Se poate observa că genotipurile de risc reprezintă în sumă 45,3%. Comparativ cu mamele copiilor din grupul de control, se constată că prezența genotipului normal AA este un factor de protecție (RR <1), cu reducerea PAF (-143,83%), pe când prezența la mame a variantei „patologice" heterozigoți AG a fost identificată ca factor de risc semnificativ (RR = 1,93). Este de notat că în lotul examinat s-a atestat un număr redus de cazuri cu genotip matern patologic GG. Cumulat (AG+GG), prezența alelei G s-a asociat cu RR = 1,92 (cu semnificație statistică); în rândul expuselor (mame purtătoare ale alelei C), proporția de cazuri atribuibilă expunerii a fost RA% = 48,0%.
- Mamele copiilor cu *spină bifidă*: AA (62,5%, n = 5), AG (37,5%, n = 3). Deși numărul cazurilor a fost limitat, se poate observa că prezența genotipului normal AA la mame este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF (-101,92%), iar prezența variantei patologice AG a fost identificată ca factor de risc (RR = 2,52), însă fără semnificație statistică (intervalul de încredere include valoarea 1). În numărul redus de cazuri examinate nu au fost identificate situații cu copii cu spină bifidă și genotipul matern „patologic" GG.
- Mamele copiilor cu *meningomielocel congenital*: AA și AG (fiecare câte 50%, n = 4). Cu toate că numărul cazurilor a fost mic, se poate constata că prezența genotipului normal AA la mame este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF (-169,23%), pe când prezența variantei „patologice" AG reprezintă un factor de risc semnificativ (RR = 3,88). În numărul de cazuri examinate nu au fost identificați copii cu meningomielocel congenital și genotipul matern „patologic" GG.
- Mamele copiilor cu *chist cerebral*: AA (47,1%, n = 8), AG (41,2%, n = 7), GG (11,8%, n = 2). Deși numărul de cazuri a fost limitat, se constată că prezența genotipului normal AA este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF(-185,06%), iar prezența variantelor

„patologice” AG și GG re prezintă factori de risc semnificativ (RR = 2,51, respectiv RR = 3,73). Cumulat (AG+GG), prezența alelei G s-a asociat cu RR = 3,32 (cu semnificație statistică); în rândul expuselor (mame purtătoare ale alelei C), proporția de cazuri atribuibilă expunerii a fost RA% = 69,9%.

- Mamele copiilor cu *craniostenoză*: AA (66,7%, n = 8), AG (33,3%, n = 4). Numărul cazurilor a fost limitat, dar se observă că prezența genotipului normal AA este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF (-79,48%), pe când prezența variantei „patologice” heterozigote AG la mame a fost identificată ca factor de risc (RR = 2,06), însă fără semnificație statistică (intervalul de încredere include valoarea 1). În numărul redus de cazuri examinate, nu au fost identificate situații cu copii cu craniostenoză și genotipul matern „patologic” GG.
- Mamele copiilor cu *hipogenezie a corpului calos*: AA (66,7%, n = 4), AG (33,3%, n = 2). Deși numărul cazurilor a fost mic, se constată că prezența genotipului normal AA este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF (-79,48%), iar prezența variantei „patologice” heterozigote AG reprezintă un factor de risc (RR = 2,21), însă fără semnificație statistică (intervalul de încredere include valoarea 1). În cazurile examinate nu au fost identificați copii cu hipogenezie a corpului calos și genotipul matern „patologic” GG.
- Mamele copiilor cu *agenezie a corpului calos*: AA (50%, n = 3), AG (33,3%, n = 2); GG (16,7%, n = 1). Cu toate că numărul cazurilor a fost limitat, se poate observa că prezența genotipului normal AA la mame este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF (-169,23%), pe când prezența variantelor „patologice” GG a fost identificată ca factor de risc semnificativ (RR = 7,40). Cumulat (AG+GG), prezența alelei G s-a asociat cu RR = 3,75 (însă fără semnificație statistică); în rândul expuselor (mame purtătoare ale alelei C), proporția de cazuri atribuibilă expunerii a fost RA% = 73,3%.
- Mamele copiilor cu *atrofie cerebrală*: AG (100%, n = 1). În perioada de colectare a datelor, a fost înregistrat un singur caz de atrofie cerebrală, însă prelucrarea statistică nu a relevat relații semnificative statistic.
- Mamele copiilor cu *sindrom Arnold-Chiari*: AA (100%, n = 2). Deși în perioada de colectare a datelor au fost înregistrate două cazuri, acestea conțineau varianta normală a genotipului (AA).
- Mamele copiilor cu *microcefalie*: AA (57,1%, n = 4), AG (42,9%, n = 3). Deși numărul cazurilor a fost limitat, se poate observa că prezența genotipului normal AA la mame este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF (-130,76%), pe când prezența variantei „patologice” AG a fost identificată ca factor de risc (RR = 3,10), însă fără semnificație statistică (intervalul de încredere include valoarea 1). În numărul redus de cazuri examinate nu au fost identificate situații cu copii cu microcefalie și genotipul matern ”patologic” GG.

Per general, se constată că, în diferite subtipuri de MCSN, în majoritatea cazurilor predomină varianta homozigotă normală AA, ca și la mamele copiilor din lotul de control, însă se observă o tendință de sporire a frecvenței genotipurilor ce conțin alela G la mamele copiilor cu diferite forme de MCSN față de mamele copiilor din lotul de control, în special a variantei heterozigoți AG.

Pentru a elucida acest fenomen, am explorat asocierile dintre variantele de genotip matern ale genei cu subtipul de MCSN, fiind prezentate în continuare cazurile cu o șansă sporită (OR semnificativ). Astfel, în cazul mamelor copiilor cu *hidrocefalie congenitală*, se observă o distribuție diferită față de cele ale copiilor din grupul de control, cu o frecvență mai înaltă a variantei heterozigoți AG (raport al șanselor semnificativ - OR = 3,71; IÎ$_{95\%}$: 1,62-8,46), diferențele fiind statistic semnificative (χ^2 = 10,42; p = 0,005). În cazul mamelor copiilor cu *meningomielocel congenital*, se atestă o distribuție diferită comparativ cu mamele copiilor din grupul de control, cu o frecvență mai mare a variantei heterozigoți AG (raport al șanselor semnificativ - OR = 4,83; IÎ$_{95\%}$: 1,06-22,08), diferențele însă nu ating semnificația statistică (p = 0.09). La mamele copiilor cu *chist cerebral*, se observă o distribuție diferită față de mamele celor din grupul de control (χ^2 = 10,02; p = 0,0007), cu o frecvență mai înaltă a variantei heterozigoți AG (raport al șanselor semnificativ – OR = 3,38; IÎ$_{95\%}$: 1,07-10,67). De asemenea, această formă de MCSN se deosebește statistic semnificativ privind distribuția genotipurilor genei *MTR2756* la mamele cu copii cu alte forme de MCSN (χ^2 = 6,54; p = 0,004), însă fără valori semnificative ale OR. La mamele copiilor cu *agenezie a corpului calos*, există o distribuție diferită față de mamele copiilor din grupul de control, cu o frecvență mai mare a variantei heterozigoți AG, diferențele fiind statistic semnificative (χ^2 = 6,35; p = 0,04), dar acest lucru nu s-a reflectat în valori semnificative ale OR. Pentru celelalte comparații, în pofida unor tendințe de diferențe în distribuție, nu s-a observat vreo semnificație statistică a diferențelor între diferite MCSN și nici la comparația cu mamele copiilor din lotul de control.

La mamele copiilor din grupul de control, pentru gena *MTRR66* se observă următoarea distribuție a variantelor de genotip: AA (40%, n = 28), AG (38,6%, n = 27) și GG (21,4%, n = 15), astfel, genotipurile „patologice” (de risc) AG și GG reprezintă în sumă 60% din cazuri. Ulterior am analizat distribuția variantelor de genotip matern pentru gena *MTRR66* (anexa 9), evaluând atât ponderea cumulativă a variantelor „patologice” (de risc), cât și riscurile prezentate de prezența acestora (riscul atribuibil și cel relativ) per subtip de MCSN (anexa 10).

- Mamele copiilor cu *hidrocefalie congenitală*: AG (52,8%, n = 28), GG (34,0%, n = 18), AA (13,2%, n = 7). Se poate observa că genotipurile de risc reprezintă în sumă 86,8%. Comparativ cu mamele copiilor din grupul de control, se observă că prezența genotipului normal AA este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF (-44,65%), pe când prezența variantelor „patologice” heterozigote AG și homozigote GG au fost identificate ca factori de risc (RR =

1,38, respectiv RR = 1,40), însă fără semnificație statistică (intervalul de încredere include valoarea 1). Cumulat (AG+GG), prezența alelei G s-a asociat cu RR = 2,61 (cu semnificație statistică); în rândul expuselor (mame purtătoare ale alelei C), proporția de cazuri atribuibilă expunerii a fost RA% = 61,7%.

- Mamele copiilor cu *spină bifidă*: AG (62,5%, n = 5), GG (37,5%, n = 3). Deși numărul cazurilor a fost limitat, se poate observa că prezența genotipului normal AA este un factor de protecție (RR <1), cu reducerea PAF (-66,66%), iar prezența la mame a variantelor „patologice" heterozigoți AG și GG constituie factori de risc (RR = 2,40, respectiv RR = 2,00), însă fără semnificație statistică (intervalul de încredere include valoarea 1). Cumulat (AG+GG), prezența alelei G s-a asociat cu RR = 9,67 (fără semnificație statistică); în rândul expuselor (mame purtătoare ale alelei C), proporția de cazuri atribuibilă expunerii a fost RA% = 89,7%.
- Mamele copiilor cu *meningomielocel congenital*: AG și GG (37,5%, n = 3), AA (25%, n = 2). Deși numărul cazurilor a fost mic, se constată că prezența genotipului normal AA este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF (-25%), pe când prezența variantei „patologice" homozigoți GG a fost identificată ca factor de risc (RR = 2), însă fără semnificație statistică (intervalul de încredere include valoarea 1). Cumulat (AG+GG), prezența alelei G s-a asociat cu RR = 1,88 (fără semnificație statistică); în rândul expuselor (mame purtătoare ale alelei C), proporția de cazuri atribuibilă expunerii a fost RA% = 46,7%.
- Mamele copiilor cu *chist cerebral*: AG (58,8%, n = 10), GG (35,3%, n = 6), AA (5,9%, n = 1). Cu toate că numărul cazurilor a fost limitat, se observă că prezența genotipului normal AA este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF (-56,86%), iar variantele „patologice" heterozigoți AG și homozigoți GG prezente au fost identificate ca factori de risc (RR = 1,93, respectiv RR = 1,71), însă fără semnificație statistică (intervalul de încredere include valoarea 1). Cumulat (AG+GG), prezența alelei G s-a asociat cu RR = 8,00 (cu semnificație statistică); în rândul expuselor (mame purtătoare ale alelei C), proporția de cazuri atribuibilă expunerii a fost RA% = 87,5%.
- Mamele copiilor cu *craniostenoză*: GG (50%, n = 6), AG (33,3%, n = 4), AA (16,7%, n = 2). Deși numărul cazurilor a fost mic, se poate constata că prezența genotipului normal AA este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF (-38,88%), pe când prezența a variantei „patologice" homozigoți GG la mame a constituit un factor de risc semnificativ (RR = 2,90). Cumulat (AG+GG), prezența alelei G s-a asociat cu RR = 2,88 (fără semnificație statistică); în rândul expuselor (mame purtătoare ale alelei C), proporția de cazuri atribuibilă expunerii a fost RA% = 65,3%.
- Mamele copiilor cu *hipogenezie a corpului calos*: AA (50%, n = 3), AG (33,3%, n = 2), GG

(16,7%, n =1). Deși numărul cazurilor a fost limitat, nu au fost identificați factori relevanți de protecție sau de risc sporit.

- Mamele copiilor cu *agenezie a corpului calos*: AG (50%, n = 3), GG (33,3%, n = 2), AA (16.7%, n = 1). Numărul cazurilor a fost mic, totuși se poate observa că prezența genotipului normal AA este un factor de protecție (RR <1), cu o reducere a PAF(-38,88%), pe când prezența la mame a variantelor „patologice" heterozigote AG și homozigote GG a fost identificată ca factor de risc (RR = 1,53, respectiv RR = 1,74), însă fără semnificație statistică (intervalul de încredere include valoarea 1). Cumulat (AG+GG), prezența alelei G s-a asociat cu RR = 3,09 (fără semnificație statistică); în rândul expuselor (mame purtătoare ale alelei C), proporția de cazuri atribuibilă expunerii a fost RA% = 67,6%.
- Mamele copiilor cu *atrofie cerebrală*: AG (100%, n = 1). În perioada de colectare a datelor, a fost înregistrat un singur caz de atrofie cerebrală, iar prelucrarea statistică nu a relevat relații semnificative statistic.
- Mamele copiilor cu *sindrom Arnold-Chiari*: AG (100%, n = 2). În perioada de colectare a datelor, au fost înregistrate doar două cazuri, prelucrarea statistică nu a relevat însă relații statistic semnificative.
- Mamele copiilor cu *microcefalie*: AA (71,4%, n = 5), AG și GG (14,3%, n = 1). Deși numărul cazurilor a fost limitat, varianta normală a genotipului a fost identificată ca factor de risc (RR = 3,33).

Per general, se constată că în diferite subtipuri de MCSN predomină, în majoritatea cazurilor, variantele genei ce conțin alela G, în contrast cu tiparul observat la mamele copiilor din lotul de control în care predomină varianta homozigotă normală AA. Totuși, pentru această genă se observă o dinamică diferită, fiind mult mai redus riscul atribuibil prezentat de variantele patologice ale genei la mame, precum și cazuri în care copii cu patologie de tip MCSN au avut mame cu tip predominant normal. Posibil, acest fenomen se poate atribui numărului redus de cazuri, precum și influenței altor factori (atât genetici, cât și epigenetici), care nu pot fi explorați pe deplin din cauza limitelor ce țin de dimensiunea eșantionului.

Ulterior, am explorat asocierile dintre variantele de genotip matern ale genei și subtipul de MCSN, fiind prezentate în continuare cazurile cu o șansă sporită (OR semnificativ). La copiii cu hidrocefalie congenitală și cu chist cerebral, s-au observat diferențe statistic semnificative privind distribuția variantelor de genotip matern pentru gena *MTRR66* (p = 0.005, respectiv p = 0.03), însă acest lucru nu s-a reflectat în OR semnificative. Este de remarcat că pentru această genă nu s-au identificat alte diferențe semnificative privind genotipul matern la copiii cu diferite tipuri de MCSN versus mamele celor din lotul de control.

Rezultatele obținute în cadrul studiului evidențiază o asociere semnificativă între anumite

variante genetice implicate în metabolismul acidului folic și riscul de apariție a malformațiilor congenitale ale sistemului nervos, în special în formele folat-dependente. Analizele comparative între subgrupuri au constatat o prevalență crescută a alelelor de risc și a genotipurilor heterozigoți sau homozigoți la mamele copiilor afectați, susținând ipoteza implicării polimorfismelor *MTHFR*, *MTR* și *MTRR* în etiopatogeneza acestor afecțiuni. Observațiile privind distribuția variantelor în funcție de subtipurile clinice de MCSN sugerează existența unor mecanisme genetice comune, dar și a particularităților distincte asociate cu anumite fenotipuri. Validitatea datelor a fost susținută de respectarea echilibrului Hardy-Weinberg, iar extinderea cercetărilor pe loturi mai mari și eterogene va permite aprofundarea acestor constatări și dezvoltarea unor direcții preventive personalizate.

Evaluarea riscului prezentat de factorii epigenetici și genetici în apariția MCSN/FMCSN

A fost realizată o analiză comparativă între lotul de control (nou-născuți vii, fără MCSN) și două grupe de studiu: copii cu malformații congenitale ale sistemului nervos (MCSN) și subgrupul acestora cu malformații folat-dependente (FMCSN). Pentru fiecare factor de risc a fost calculat riscul relativ (RR) și riscul atribuibil (RA), exprimate procentual, evidențiindu-se factorii cu cel mai mare impact asupra dezvoltării acestor malformații (anexa 10).

Factorii de sănătate paternă. S-a observat că aflarea tatălui în evidența medicilor-specialiști a fost un factor de protecție (RR <1) față de apariția MCSN la copiii descendenți, însă acest lucru nu a fost la fel de evident în cazul comparației *FMCSN* versus *control* (RR = 1.55), ceea ce ar arăta că există alți factori, mai puternici, care ar spori riscul de dezvoltare a acestui subtip de MCSN în populație. Per general, ceilalți indicatori colectați au prezentat un risc sporit atât pentru dezvoltarea MCSN, cât și a FMCSN. O tendință generală observată este că pentru majoritatea indicatorilor de sănătate paternă, riscul relativ avea valori mai sporite în caz de FMCSN. Analiza separată a valorilor riscului atribuibil relevă că, în caz de MCSN, o serie de factori sunt atribuibili apariției bolii în 4-20% din toate cazurile de maladie, însă este de specificat că, în cazul FMCSN, valorile riscului atribuibil cresc, în special făcându-se remarcați factorii ce țin de vicii (tabagism, abuz de alcool) și de infecțiile din complexul TORCH (valori RA >50%).

Factorii de sănătate maternă și ***intrauterini***. S-a constatat că valorile riscului relativ sunt variate, în special observându-se un impact mai marcat al factorilor infecțioși (citomegalovirus, hepatita virală), al expunerii la noxe (chimice, fizice) și al anumitor vicii (tabagismul). O tendință similară cu factorii de sănătate paternă este faptul că, pentru majoritatea indicatorilor, riscul relativ avea valori mai sporite în caz de FMCSN. Evaluarea riscului atribuibil relevă următorii factori-cheie (valori RA >50%) comuni atât pentru apariția MCSN, cât și a FMCSN: infecțiile TORCH, aflarea în evidența medicilor-specialiști, infecția cu citomegalovirus, sarcina patologică. De

asemenea, s-a observat o influență puternică a factorului *anemie în timpul sarcinii* în apariția MCSN (RA = 50,84%), precum și a factorului *tabagism în timpul sarcinii* privind apariția malformațiilor congenitale ale SN folat-dependente (RA = 61,95%). Administrarea acidului folic în timpul sarcinii a relevat un efect protectiv semnificativ împotriva apariției FMCSN, pe când lipsa administrării acestuia a sporit riscul relativ (RR = 19,09), ceea ce reconfirmă utilitatea acestei măsuri de prevenție.

Factorii sociodemografici au reconfirmat riscul prezentat de sexul masculin al copilului, de locul rural de trai și de starea socioeconomică nefavorabilă în apariția FMCSN, acestea fiind raportate și în alte studii ca potențiali factori asociați acestui subtip de malformații congenitale ale SN. La evaluarea riscului atribuibil, s-a remarcat statusul economic de vulnerabilitate ca fiind asociat cu apariția FMSCN (RA >50%).

În ceea ce ține de polimorfismele genelor ciclului folat analizate în studiu, s-a observat un impact diferit al acestora asupra valorilor riscului relativ și celui atribuibil. Astfel, per general, se observă o asociere puternică mai ales cu formele folat-dependente de MCSN pentru variantele de SNP materne (CT pentru *MTHFR677*, AC pentru *MTHFR1298*, AG pentru *MTR2756*), cu un risc atribuibil mai marcat (RA >25%). De asemenea, prezența la mame a variantelor homozigoți a acestor gene (*MTHFR677*CC, *MTHFR 1298AA*, *MTR2756*AA și *MTRR66AA*) a relevat un efect protector (RR <1), confirmat prin diminuarea semnificativă a riscului atribuibil.

Astfel, aceste date, inclusiv cele din evaluarea statistică precedentă, demonstrează că elaborarea unor noi politici de sănătate, orientate spre evidențierea și controlul acestor factori, ar putea avea un efect benefic în sănătatea publică prin reducerea incidenței cazurilor de malformații congenitale a SN, în special a celor folat-dependente.

Totodată, o limitare a acestor estimări ce trebuie luată în calcul este faptul că incidența redusă a bolii în populația generală a RM, precum și dificultatea de eșantionare, nu au permis realizarea unor modele de interacțiune genetico-epigenetică. De asemenea, dimensiunea redusă a lotului, a impus utilizarea testelor de simulare (Monte Carlo, 10 000 de iterații) pentru a estima potențiale asocieri, însă rezultatele obținute necesită a fi verificate în eșantioane extinse, pentru a putea formula concluzii deterministice.

DISCUȚII

Malformațiile congenitale ale sistemului nervos (MCSN) reprezintă o problemă actuală de sănătate publică la nivel mondial. În Uniunea Europeană, prevalența medie a acestora nu a înregistrat o scădere semnificativă în ultimele trei decenii, din cauza divergențelor de adaptare a diferitelor politici de sănătate [172]. Astfel, impactul MCSN asupra mortalității fetale și evoluției sarcinii este considerabil. În spațiul european, până la 91% din sarcinile afectate de *anencefalie* și 66% din cele afectate de *spina bifidă* sunt întrerupte voluntar [172]. De asemenea, aproximativ 75% din feții diagnosticați cu *anencefalie* sunt născuți morți, iar speranța de viață postnatală este extrem de redusă, variind de la câteva zile la cel mult câteva săptămâni. Totodată, calitatea vieții și costurile pentru sistemul medical sunt afectate sever de aceste anomalii. Astfel, copiii născuți cu *spină bifidă* se confruntă cu unele consecințe fizice, psihologice și sociale majore: disfuncții intestinale și urinare, absența controlului muscular la nivelul membrelor inferioare (ce impune utilizarea scaunului rulant pe tot parcursul vieții), necesitatea unui suport medical de lungă durată, șanse reduse de integrare profesională și risc crescut de izolare socială. Aceste date conturează amploarea și gravitatea problemei și justifică analiza aprofundată a situației actuale din Republica Moldova în contextul studiului de față.

În baza datelor existente în Registrul Național al Maladiilor Congenitale din Republica Moldova, în perioada 2018-2023, în RM s-au născut 178 mii de copii, dintre care peste 2,1 mii de nou-născuți cu diferite anomalii de dezvoltare. În cadrul studiului retrospectiv realizat, s-a determinat că, în perioada evaluată (2018-2023), s-au înregistrat 245 de cazuri de malformații congenitale ale sistemului nervos, dintre care 27,5% (68 cazuri) au fost *MCSN folat-prevenibile*. Aceasta demonstrează persistența acestor patologii în rândul populației, în special a formelor folat-prevenibile, ceea ce este în concordanță cu datele din literatura de specialitate [76]. În Statele Unite ale Americii și Canada, introducerea fortificării alimentelor de bază la sfârșitul anilor 1990 a determinat scăderea semnificativă a ratei de spină bifidă și de anencefalie [173]. În țările europene, implementarea unor astfel de politici este insuficientă, ceea ce a dus la persistența acestor anomalii, cu prevalențe mai ridicate decât pe continentul american. Estimările realizate de Morris et al. (2021) relevă că dacă țările europene ar fi implementat fortificarea cu acid folic la nivelul adoptat de SUA în 1998, ar fi fost prevenite aproximativ 14.600-19.500 de sarcini cu MCSN [173].

Distincția dintre malformațiile sistemului nervos folat-prevenibile (*spina bifidă*, *anencefalia* și, după unii autori, *encefalocelul*, *agenezia corpului calos* sau *holoprosencefalia*) și alte tipuri de MCSN este importantă la nivel de politici de sănătate. Astfel, rezultatele compilate de autori pe parcursul a peste 30 de ani de monitorizare, relevă o eficiență înaltă a măsurilor preventive implementate, în special a suplimentării cu acid folic în perioada pre-concepțională și post-concepțională, precum și a fortificării alimentelor de bază (*staple foods*). De asemenea, sunt

importante și campaniile de informare și conștientizare publică, ce au scopul de a educa și a informa populația despre importanța suplimentării cu acid folic și despre măsurile preventive care pot fi luate pentru a reduce riscul de malformații congenitale [163,174].

Totuși, în perioada evaluată, în pofida anumitor fluctuații interanuale ale numărului de cazuri, se observă o tendință de descreștere a incidenței MCSN, inclusiv a celor folat-prevenibile, relevată prin intermediul modelului cu regresii Poisson, statistic semnificativ (MCSN - $\beta = -0{,}35087$; ES = 0,04165; z = -8,43; p = 2e-16; AIC = 43,12; MCSN folat-prevenibile - $\beta = -0{,}36467$; ES = 0,07969; z = -4,58; p <0,00001; AIC = 29,54). Aceste date sunt în concordanță cu rezultatele similare observate în țările europene sau în țările care au inițiat deja de câțiva ani politici de prevenire a MCSN, în special folat-dependente [173]. În Ucraina, de asemenea, se observă o tendință de descreștere a incidenței anomaliilor congenitale, dinamica acestora fiind descrisă ca una fluctuantă [175].

Am putea afirma că, în Republica Moldova, tendința de descreștere a MCSN ar fi un rezultat pozitiv al măsurilor de sănătate publică privind fortificarea făinoaselor cu acid folic, cu termen de implementare până în anul 2017 (HG nr. 171 din 19.03.2012, modificată prin HG 229 din 04.05.15; MO110-114/08.05.15, art. 258; în vigoare din 08.05.15 „Cu privire la aprobarea măsurilor de reducere a morbidității cauzate de carența de fier și acid folic până în anul 2017”). Aceasta corespunde cu dovezile la nivel global privind beneficiile acidului folic în prevenirea anumitor forme de MCSN [173]. Rezultatele obținute de alte țări care au implementat măsuri de fortificare au fost menționate în Declarația de Poziție a EBCOG (Consiliul European și Colegiul de Obstetrică și Ginecologie) [172]. Astfel, în Chile s-a observat o reducere cu 50% a incidenței DTN pe parcursul a 10 ani după introducerea fortificării obligatorii a făinii de grâu cu acid folic în anul 2000 [172].

Totuși, incidența nu a ajuns încă la nivelul minim teoretic (unele cazuri continuă să apară), sugerând că persistă domenii care necesită îmbunătățiri, de exemplu - creșterea aderenței la suplimentarea înainte de concepție, în special la populațiile vulnerabile socioeconomic. În studiul nostru, vulnerabilitatea socioeconomică a fost asociată cu prezența MCSN (p = 1,45e-05), fapt susținut și printr-un OR de 6,1603.

Comparând datele naționale cu cele europene (din registrele EUROCAT), se constată că incidența generală a MCSN în Republica Moldova se apropie de valorile medii raportate în Europa pentru majoritatea malformațiilor, însă pentru anumite subtipuri se înregistrează o serie de diferențe, întrucât dinamica datelor EUROCAT este mai stabilă, iar datele privind RM reflectă fluctuațiile în funcție de raportare.

În literatura de specialitate se recomandă o doză zilnică de 400 μg de acid folic pentru asigurarea proceselor de neurogeneză și sinaptogeneză fiziologică, aceasta determinând niveluri adecvate de acid folic în plasma sanguină și eritrocite pentru dezvoltarea corectă a SNC la făt. Se cunoaște că insuficiența și deficitul de acid folic la femeile însărcinate au un impact negativ asupra metilării ADN-ului, histonelor și ale genelor induse de homocisteină și micro-ARN-uri [106]. Mecanismele de epigenetică mitocondrială asigură desfășurarea proceselor normale în perioada de embriogeneză, iar metabolismul mitocondrial al acidului folic este determinant în dezvoltarea normală a tubului neural [153].

Wilson et al. (2015) au propus unele recomandări pentru consumul de acid folic în baza sintezei dovezilor din literatura de specialitate. Astfel, se recomandă ca la vârste între 12 și 45 de ani să se mențină o alimentație bogată în acid folic și să se analizeze periodic obiceiurile alimentare [176]. Femeile cu risc crescut de a avea copii cu DTN, în special cele cu antecedente de astfel de sarcini, ar trebui să ia o doză mai mare de acid folic cu scop de prevenire (4-5 mg/zi). Studiul realizat de Dupepe et al. (2017) a relevat că la copiii cu DTN în 16,9% cazuri există o anamneză familială de DTN, indiferent de linia maternă sau paternă; astfel, această rată înaltă de antecedente familiale pozitive sugerează că genetica și epigenetica ar putea juca un rol mai important în patogeneza DTN în era modernă a suplimentării pe scară largă cu folat [171]. Pentru femeile cu risc crescut de DTN și pentru cele cu maladii sistemice cronice (HTA, diabet etc.), se recomandă o doză moderată de acid folic (1,0 mg/zi). Femeile cu risc scăzut de DTN trebuie să ia o doză mai mică de acid folic (0,4 mg/zi) pe toată durata sarcinii și a alăptării [177].

Metabolismul acidului folic este fundamental pentru închiderea tubului neural, influențând metilarea lipidelor, proteinelor și ADN-ului care, la rândul ei, asigură apoptoza și proliferarea corectă a celulelor cerebrale [178]. În cadrul studiului nostru, datele anamnestice colectate au relevat că, în grupul de copii cu MCSN, majoritatea mamelor (78,6%) nu au primit suplimentare cu acid folic pre- și post-concepțional, iar în subgrupul de copii cu FMCSN - 93,8% din mame, aceste date fiind statistic semnificative comparativ cu lotul de control ($p < 0,001$). Totuși, în studiul nostru, deoarece nu am avut posibilitatea monitorizării longitudinale a gravidelor, datele privind administrarea acidului folic au fost colectate pe bază de anamneză, ceea ce, din punct de vedere metodologic, pune problema unor erori de raportare și *bias* (părtinire), legate de memoria participantelor investigate.

Pe lângă acestea, există o serie de factori care influențează eficiența suplinirii cu acid folic, printre care se numără utilizarea în alimentație a produselor fortificate prin programe de stat, doza administrată, suplinire separată sau ca parte a unui complex multivitaminic, biodisponibilitatea, momentul administrării, metabolismul matern și factorii genetici [176]. De asemenea, alți autori remarcă și existența altor factori (inclusiv sociodemografici și asociați sarcinii) care pot determina

riscul de apariție a MCSN, inclusiv folat-dependente, și anume: aportul inadecvat de acid folic până la sarcină, nașterea copiilor cu defecte ale tubului neural din sarcinile anterioare, originea europoidă a mamei, nivelul redus de educație etc. [179].

Analiza caz-control a evidențiat un profil distinct al familiilor cu copii afectați de MCSN, comparativ cu martorii, sugerând rolul important al determinanților sociodemografici.

În studiul de față s-a observat o ușoară predominare a băieților în eșantionul de copii cu MCSN investigat, iar în subgrupul cu anomalii folat-prevenibile (FMCSN) predominau fetițele (56,2%), însă aceste tendințe nu erau statistic semnificative față de lotul de control (p_{adj} = 0,7340; respectiv p_{adj} = 0,7340). Este de menționat că în literatura de specialitate se discută despre rolul diferențelor de sex masculin/feminin asupra prevalenței MCSN. Astfel, într-un studiu realizat în China s-a relevat o influență epigenetică a acidului folic ca factor de protecție împotriva defectelor de tub neural în special la copiii de sex feminin, datorită inactivării cromozomului X [180], însă aceste mecanisme nu sunt cercetate suficient. De asemenea, într-un studiu cu design similar, Adri et al. au identificat că raportul *baieți:fetițe* cu malformații congenitale (inclusiv MCSN) era de 1:38, iar 56,6% dine nou-născuți cu malformații erau băieți [67], înregistrându-se și 4 cazuri (2,5%) cu ambiguitate sexuală din cauza prezenței multiplelor malformații și dezvoltării anormale a sistemului reproductiv. În alte studii s-a remarcat, de asemenea, această tendință de prevalență mai înaltă a malformațiilor congenitale la băieți (57,52%) comparativ cu fetițele (42,47%) [181], unii autori sugerând că ar exista o predispoziție mai înaltă asociată cu sexul masculin (p = 0,001) [67].

În studiile precedente realizate pe baza datelor EUROCAT, s-a relevat rolul important al zonei de trai (urban/rural) în prevalența MCSN [86]. Studiul nostru a evidențiat că incidența acestor malformații este mai mare în zonele rurale (în special în cazul FMCSN), unde accesul la servicii medicale și la suplimente nutriționale este limitat. Într-un studiu din Maroc [67] s-a determinat că 61% din mamele copiilor cu malformații congenitale (inclusiv MCSN) erau din mediul rural. În același timp, autorii au menționat că 68,6% din mame nu au primit îngrijire prenatală, deși 62,3% din sarcini erau cu risc înalt.

În pofida numărului limitat de copii investigați, putem afirma că aceste tendințe subliniază necesitatea unor intervenții specifice pentru a îmbunătăți accesul la îngrijirea prenatală și la suplimentele de acid folic în zonele rurale. Politicile de sănătate publică ar trebui să includă măsuri pentru a asigura ca femeile din zonele rurale să aibă acces la aceleași servicii și resurse ca și cele din zonele urbane. Acest lucru este important și în contextul în care practica neonatologică arată că majoritatea copiilor cu MCSN la naștere necesită intervenții timpurii pentru stabilizarea stării generale. În studiul nostru, acest lucru este reflectat și prin aprecierea scorurilor APGAR (imediat la naștere și la 5 minute), unde s-a observat că starea generală a copiilor cu MCSN (inclusiv cu

FMCSN) era mai precară decât la nou-născuții din lotul de control, cu semnificație statistică (p_{adj} = 5,3836e-12; respectiv p_{adj} = 2,8612e-06). În studiul realizat de Adri et al. (2024), 56,6% din nou-născuți au avut un scor APGAR la naștere între 7 și 10, cu 20,7% cazuri în distres (scor 4-6) și 22,6% în stare critică (scor APGAR <3), ultimii necesitând resuscitare de urgență [67]. Autorii au menționat că în eșantionul lor din Maroc, decesul la naștere a fost înregistrat în 11,3% cazuri la copiii cu malformații congenitale, iar rata de mortalitate în primele 24 de ore a fost de 15,1%.

În acest context, este importantă studierea antecedentelor familiale, dat fiind faptul că rezultatele noastre relevă că prezența MCSN la nou-născut este asociată cu prezența altor maladii neurologice sau de tip MCSN la nașterile precedente (p = 2,42e-02). Recurența intrafamilială a defectelor de tub neural este documentată și a fost demonstrat că la femeile care avuseseră anterior un copil cu DTN, suplimentarea cu 4,0 mg de acid folic zilnic, începând cu trei luni înainte de concepție, a dus la o reducere cu 70% a recurenței DTN la viitorii copii [182].

Este de menționat rolul situației socioeconomice a familiei, deoarece rezultatele noastre relevă la copii investigați cu MCSN (inclusiv FMCSN) o frecvență mai mare a stării de vulnerabilitate socială, cu semnificație statistică (p = 1,45e-05; respectiv p = 5,00e-04), totodată determinându-se un raport al șanselor (OR) de 6,1603 ori mai mare ca un copil cu MCSN să provină dintr-o familie vulnerabilă ($ÎI_{95\%}$: 2,5695; 14,7689; p <0,001).

Aceste rezultate corespund cu studiul realizat de Kalyvas et al., care au constatat că nivelul de educație și statutul socioeconomic influențează semnificativ riscul de defecte ale tubului neural [50,131]. Un studiu recent din SUA [183] a relevat că rezidența în zone cu „*privare materială*” severă crește semnificativ riscul de a avea un copil cu defect de tub neural, în special pentru formele folat-dependente (spină bifidă, anencefalie și encefalocel). Rezultate similare au fost obținute de Vrijheid et al. (2000), care au raportat că riscul de anomalii noncromozomiale crește odată cu „*privarea economică*”. Mecanismele posibile includ accesul redus la îngrijiri prenatale și la suplimente de folat, alimentația mai săracă în nutrienți esențiali, precum și prevalența mai mare a comportamentelor de risc (fumat, consum de alcool, expuneri ocupaționale) în grupurile vulnerabile socioeconomic [184]. Astfel, putem concluziona că lipsurile și condițiile de viață precare pot diminua șansele unei sarcini sănătoase, reflectându-se într-o incidență sporită a MCSN la acest segment populațional. Acest fapt sugerează că intervențiile de sănătate publică ar trebui să vizeze cu prioritate femeile din medii dezavantajate, asigurându-le suport nutrițional și educațional adecvat.

Alte studii în domeniu au accentuat că factorii sociodemografici, precum sărăcia, nivelul scăzut de educație și accesul limitat la îngrijiri, se asociază puternic cu MCSN, evidențiind nevoia de intervenții sociale [183]. Acest lucru sugerează că prevenirea MCSN nu poate fi strict biomedicală (administrarea acidului folic), ci trebuie să includă și măsuri sociale: eradicarea

sărăciei extreme, asigurarea accesului la servicii prenatale pentru grupurile defavorizate, intervenții de planificare familială și sprijin psihosocial.

În studiul curent s-a observat că părinții copiilor cu MCSN au fost puțin mai în vârstă comparativ cu părinții din grupul de control, deși diferențele de vârstă nu au atins pragul de semnificație statistică în mod consistent în toate analizele. Literatura de specialitate indică existența unor riscuri ușor crescute de anomalii congenitale asociate cu vârsta parentală avansată. Anterior a fost relevat că vârsta maternă de peste 30 de ani prezintă un OR de 3,5 ($ÎI_{95\%}$: 1,1; 12) de a avea copii cu DTN [185]. Lee et al. (2021) menționează că studiile precedente din literatura de specialitate nu au raportat un efect puternic al vârstei paterne mai înaintate (>45 de ani) ca factor singular de risc de apariție a DTN la urmași, însă asocierea vârstei >45 de ani cu tabagismul și/sau maladiile cronice cardiovasculare a sporit riscul de naștere a unui descendent cu DTN [50]. Studiile populaționale anterioare [186–188] din diferite regiuni au relevat că între vârsta avansată a mamei și prezența unor anomalii congenitale la nou-născut există o asociere puternică, dat fiind că odată cu vârsta crește și riscul de alte complicații ale sarcinii (avort spontan, sarcină complicată, naștere prematură, hipotrofia fătului și altele).

În acest context, în literatura de specialitate se studiază influența factorilor de sănătate maternă/paternă, expunerile ambientale și ocupaționale și asocierea acestora cu riscul de apariție a diferitelor malformații (inclusiv MCSN) la urmași [50,185]. În cadrul studiului, prin anchetare, am examinat acești factori, observând că unii dintre ei au fost comuni pentru mame și tați, prezentând un risc înalt pentru MCSN (infecțiile TORCH, consumul de alcool, utilizarea medicației, evidența la medicii-specialiști, HTA, statusul supraponderal), pe când alți factori au fost asociați predominant cu tații (tabagismul, viciile cardiace, diabetul zaharat), iar alții au o legătură mai strânsă cu mamele (utilizarea medicației, anemia, pielonefrita, epilepsia, bolile genetice). Așadar, vom aduce în discuție o serie de dovezi din literatura de specialitate privind asocierea acestor factori cu riscul de apariție a MCSN la urmași.

În literatura de specialitate este confirmată legătura dintre *obezitatea maternă* și riscul de malformații congenitale, în special de defecte ale tubului neural. O metaanaliză recentă a demonstrat că femeile obeze au un risc cu ~62% mai mare de a avea un făt cu defect de tub neural comparativ cu cele cu indicele masei corporale (IMC) în normă (OR ~1,62; $IÎ_{95\%}$: 1,32-1,99). Deși în studiul nostru nu am realizat o diferențiere detaliată între variantele de IMC (normă, subponderabilitate, supraponderalitate și obezitate), asocierea unui IMC ridicat la mamele copiilor cu MCSN din studiu se aliniază tendinței descrise în literatura globală și subliniază necesitatea consilierii nutriționale a femeilor de vârstă reproductivă. În acest context, sunt necesare noi studii privind rolul altor carențe de nutrienți în alimentație în raport cu dezvoltarea fetală, cum ar fi anemia maternă, deficiențele de zinc, ale complexului de vitamine B și alți nutrienți [140].

În literatura de specialitate există multiple studii privind efectul teratogen al diferiților factori, în special privind asocierea dintre diferite anomalii de dezvoltare (inclusiv MCSN) cu infecțiile TORCH în sarcină (toxoplasmoză, rubeolă, CMV, herpes congenital), pielonefrita gestațională, hipertensiunea arterială (HTA) indusă de sarcină, utilizarea anumitor medicații în primul trimestru etc [189–193]. Fiecare dintre acești factori poate contribui la teratogeneză: infecțiile virale congenitale (precum citomegalovirusul) sunt cauze cunoscute de microcefalie, calcificări cerebrale și hidrocefalie; pielonefrita și infecțiile materne severe pot induce inflamație sistemică și hipertermie, condiții asociate cu creșterea riscului de defecte de tub neural (hipertermia în primul trimestru este un teratogen cunoscut); hipertensiunea și medicația antihipertensivă (de ex., inhibitorii ECA) pot afecta perfuzia fetoplacentară și sunt legate de anomalii de dezvoltare (deși mai frecvent renale). În studiul lui Adri et al. (2024), la mamele copiilor cu malformații congenitale (inclusiv MCSN) s-a atestat o anamneză obstetricală agravată la 33,3% din acestea, dintre care 14,5% aveau diabet, 10,06% - hipertensiune, 6,3% - anemie [67]. Totodată, este cunoscut faptul că fortificarea și suplimentarea cu acid folic poate, de asemenea, să reducă incidența anemiei secundare deficitului de folat. Astfel, în SUA, această politică publică a dus la reducerea prevalenței acestei patologii de la 8,4% la 0,4% din populație [172]. În studiul realizat de Yang et al. (2023) pe un lot de 495 de copii cu DTN și 255 de copii fără DTN (control) din nord-vestul Chinei (provincia Xinjiang), s-au observat următoarele valori ale OR privind asocierea factorilor de risc de mediu cu apariția DTN la descendenți: hipertermie în primul trimestru al sarcinii (OR = 8,9; IÎ$_{95\%}$ 1,253-12,627; p <0,001); utilizarea medicației antiepileptice (OR = 10,4; IÎ$_{95\%}$ 2,530-18,892; p <0,001); expunerea tatălui la solvenți organici (OR = 5,7; IÎ$_{95\%}$ 2,248-9,336; p =0,012); insuficiența de acid folic (OR = 12,3; IÎ$_{95\%}$ 6,085-34,326; p <0,001); diabetul matern (OR = 6,2; IÎ$_{95\%}$ 1,089-8,874; p = 0,007) [17].

Rolul infecțiilor intrauterine în dezvoltarea MCSN constituie un alt punct de interes al discuțiilor noastre. Studiul prezent a relevat că, în special, infecțiile TORCH au fost asociate cu un risc crescut de malformații congenitale. Aceste rezultate sunt susținute de literatura de specialitate, în care se raportează că infecțiile virale și bacteriene din timpul sarcinii pot afecta negativ dezvoltarea fetală. Identificarea și gestionarea infecțiilor intrauterine prin screening prenatal și tratamentele adecvate pot contribui la reducerea riscului de malformații congenitale [87]. Infecțiile intrauterine pot duce la inflamații și stres oxidativ, care compromit dezvoltarea fetală. Anemia maternă, prin reducerea transportului de oxigen către făt, poate perturba dezvoltarea cerebrală normală [188].

Utilizarea anumitor medicamente în perioada pre-concepțională și post-concepțională este un factor de risc notabil în literatura de specialitate, în special dacă include medicamente teratogene cunoscute, printre care se pot menționa acidul valproic (anticonvulsivant ce sporește

riscul de spină bifidă), retinoizii (efecte adverse în dezvoltarea craniofacială și cerebrală) și metotrexatul (antagonist al folatului, cu efect teratogen remarcat) [194].

În studiul nostru nu am avut detalii privind tipurile de medicamente folosite, dar incidența crescută a administrării medicației la mamele din grupul MCSN sugerează fie prezența mai multor afecțiuni materne ce necesitau tratament (epilepsie, maladii autoimune etc.), fie o potențială expunere la substanțe teratogene neidentificată. Este de remarcat că unele dintre aceste condiții materne pot coexista, generând un risc cumulativ: de exemplu, obezitatea se asociază adesea cu HTA și diabet gestațional, fiecare contribuind la riscul de malformații.

Astfel, starea de sănătate a mamei contribuie semnificativ la riscul de MCSN, în conformitate cu mecanismele teratogene cunoscute. Deși mai puțin intuitiv, și factorii paterni joacă un rol important, confirmând abordarea modernă conform căreia prevenirea malformațiilor congenitale trebuie să implice ambii parteneri ai cuplului. În studiul curent, analiza factorilor paterni a relevat, în mod similar, o incidență crescută a unor factori de risc în rândul taților copiilor cu MCSN, în special fumatul patern cronic, consumul de alcool și uzul de droguri recreaționale au fost mai frecvent raportate la tații din grupul de cazuri față de cel de control. Deși impactul direct al factorilor paterni asupra dezvoltării fetale este mai puțin studiat decât cel al factorilor materni, există dovezi tot mai numeroase că stilul de viață și sănătatea tatălui înainte de concepție pot influența calitatea materialului genetic spermatic și mediul de concepție [195]. Fumatul patern, de exemplu, a fost asociat cu creșterea riscului de anomalii congenitale la copil, incluzând defecte cardiace, de membre și posibil defecte de tub neural, prin mecanisme ce țin de mutații și de modificările epigenetice induse de substanțele toxice din tutun [50].

În literatura de specialitate este cunoscut că expunerea paternă la fumul de țigară se corelează cu o creștere a riscului de malformații cardiace congenitale; de asemenea, s-au raportat asocieri între fumatul patern și defectele orofaciale sau tumorile cerebrale la copil [195]. Mecanismele elucidate includ leziuni oxidative ale ADN-ului spermatozoizilor și transmiterea unor modificări epigenetice care afectează dezvoltarea embrionară. Consumul patern cronic de alcool și/sau droguri poate avea efecte similare, iar înaintarea în vârstă este considerată un factor ce afectează integritatea ADN-ului din spermă, ducând la alterarea expresiei genelor din embrion [196]. Astfel de comportamente indică adesea un mediu familial cu multiple riscuri (părinții care consumă substanțe pot să nu asigure un mediu optim pentru concepție și sarcină, posibil existând și neglijență față de sănătatea maternă). Un aspect interesant în studiul nostru este identificarea faptului că anumiți factori de risc au fost *comuni ambilor părinți* în familiile afectate de MCSN, sugerând expuneri sau caracteristici familiale împărtășite: infecțiile TORCH (posibil indicând o expunere comună la surse infecțioase), consumul de alcool, obezitatea și prezența unor boli cronice (HTA). Acest aspect demonstrează că factorii de mediu și stilul de viață acționează la nivelul

cuplului, iar prevenirea trebuie adresată ambilor viitori părinți, nu doar mamei.

Pe lângă stilul de viață, și antecedentele medicale ale taților au demonstrat diferențe: în grupul de cazuri s-au regăsit mai mulți tați cu afecțiuni cronice, precum *malformații cardiace congenitale* și *diabet zaharat*. Aceste asocieri pot reflecta o componentă genetică: de exemplu, un tată cu o anomalie congenitală poate transmite predispoziția genetică copiilor săi. Malformațiile cardiace la tată ar putea indica prezența unor gene sau expuneri familiale cu efect pleiotropic (ce predispun la diverse malformații, inclusiv neurologice). Diabetul patern, mai rar studiat, ar putea influența riscul prin daune oxidative asupra spermatozoizilor sau prin moștenirea unei susceptibilități la tulburări de metabolism, care pot afecta indirect și dezvoltarea embrionară. Totuși, dovada directă a influenței diabetului patern asupra MCSN este limitată – este posibil ca prezența diabetului la tată să fie corelată cu cel matern (tendință de cuplare a persoanelor cu obezitate/metabolic), așa încât factorul de bază să fie obezitatea ambilor părinți care, după cum s-a menționat, este teratogenă. În fine, la tații copiilor cu MCSN studiul a identificat o incidență mai mare a *infecțiilor cronice* (inclusiv infecții TORCH), deși la prima vedere pare surprinzător, acest lucru poate indica un statut socioeconomic precar (infecțiile netratate fiind mai frecvente în aceste grupuri) sau chiar o transmitere verticală indirectă (de ex., un tată cu infecție herpetică activă poate infecta mama în timpul sarcinii, cauzând un risc fetal).

Un aspect important privind factorii de risc îl constituie expunerile la noxe și condițiile de mediu în timpul preconcepției și al sarcinii. Analiza noastră a relevat că mamele copiilor cu MCSN au raportat mai frecvent vicii în sarcină, în special *fumatul* (activ sau pasiv), *consumul de alcool* și/sau *droguri*. Fumatul matern în sarcină, deși mai puțin studiat ca teratogen direct pentru MCSN, reduce disponibilitatea oxigenului și a nutrienților la făt și consumă din rezervele materne de vitamine (acidul folic este catabolizat mai rapid la fumătoare). Unele studii au sugerat o legătură între fumatul gravidei și riscul ușor crescut de defecte de tub neural, deși nu la nivelul altor factori majori (un efect mai clar al fumatului se vede la despicăturile orofaciale și malformațiile cardiace). În cohorta noastră, procentul de fumătoare în sarcină a fost semnificativ mai mare la mamele cu copii cu MCSN decât la cele de control, ceea ce arată că fumatul poate induce un mediu intrauterin advers. Consumul de alcool în primul trimestru poate duce la embriopatii severe – de la spectrul alcoolic fetal (cu microcefalie și întârziere mintală) până la anomalii de migrare neuronală. Deși defectele de tub neural nu sunt principalele efecte ale alcoolului (acesta nefiind implicat în închiderea prematură a tubului neural în dezvoltarea ulterioară cerebrală), consumul cronic abundent se poate asocia cu malnutriția (incluzând deficiență de folat), crescând riscul global de malformații. La fel, consumul de substanțe psihitrope (opioide, canabis, stimulante) în sarcină poate cauza vasoconstricție placentară, hipoxie fetală și perturbări de dezvoltare neurologică. Prezența acestor factori la un număr mai mare de mame cu copii din grupul MCSN reflectă,

probabil, aspecte sociale (suprapunându-se cu vulnerabilitatea economică) și evidențiază necesitatea unor intervenții de sănătate publică - consiliere privind renunțarea la fumat/alcool înainte de sarcină și suport pentru gravidele consumatoare.

Alte tipuri de expuneri relevante sunt cele profesionale și ambientale la substanțe toxice și radiații. Volosovets et al. (2020), în urma analizei datelor din studii longitudinale (25 de ani de monitorizare) privind incidența și prevalența anomaliilor congenitale în Ucraina, au relevat că incidența acestora a sporit cu 59,5% în perioada analizată, principalii factori fiind cei de mediu (poluanții ecotoxici în regiunile industriale și radiația în regiunile afectate de catastrofa de la Cernobîl) [197]. Mamele din lotul MCSN au raportat mai frecvent contactul cu substanțe chimice nocive în timpul sarcinii (solvenți chimici, pesticide) și expunerea la radiații (posibil radiații industriale sau investigații medicale cu raze X în sarcină). Literatura arată clar efectele teratogene ale multor agenți chimici: *pesticidele organofosforice* și *erbicidele*, de exemplu, au fost asociate cu un risc crescut de anencefalie și alte anomalii de tub neural la copiii lucrătorilor agricoli expuși. Solvenții organici folosiți în vopsitorii sau în industria chimică au cauzat malformații ale SNC - studiile au relevat că anume copiii vopsitorilor sau tâmplarilor (meserii cu expunere la solvenți) prezintă o incidență mai mare de anencefalie, defecte cardiace și de tub neural. În studiul nostru, deși nu s-au detaliat ocupațiile părinților, identificarea expunerii la noxe sugerează un număr de cazuri posibil legate de mediu: femeile însărcinate care au lucrat sau au locuit în medii toxice au prezentat un risc mai mare de a avea copii cu MCSN. Expunerea la radiații ionizante în sarcină (de ex., raze X repetate, radiații industriale) este un cunoscut factor teratogen, asociat în special cu microcefalia și întârzierea mintală. În eșantionul nostru, câteva mame au raportat astfel de expuneri, ceea ce subliniază importanța protecției gravidelor de agenții fizici nocivi.

Multe dintre rezultatele noastre privind factorii sociodemografici, ai sănătății materne/paterne și pre- și post-concepționali au confirmat ceea ce era deja cunoscut în teratologie: malformațiile congenitale majore, precum cele ale sistemului nervos, au o etiologie multifactorială complexă, în care se împletesc susceptibilități genetice cu o serie de factori de mediu. Studiul a adus însă și perspective noi, adaptate contextului local din Republica Moldova.

Totuși, este de menționat că literatura de specialitate conține mai puține date referitoare la factorii paterni [195], aceștia fiind insuficient investigați, deși se cunoaște că, în primele etape ale sarcinii, genetica paternă afectează dezvoltarea fetală, deoarece genele moștenite de la tată determină particularitățile de dezvoltare a spațiului intervilos la făt. Există o serie de date privind nutriția paternă și influența acesteia asupra descendenților, presupunându-se că ar implica mecanisme epigenetice (metilarea ADN-ului, modificări ale histonelor) și/sau modificări necodante ale ARN-ului spermatic [198]. Multe dintre studiile științifice privind sănătatea paternă sunt dedicate tabagismului, dat fiind faptul că fumul de tutun conține mai multe substanțe toxice

și mutagene, care au un impact profund nu numai asupra fertilității masculine, ci și asupra geneticii descendenților nefumători. Substanțele chimice ale țigărilor acționează ca perturbatori endocrini și cresc formarea speciilor reactive de oxigen (ROS) și secreția de citokine inflamatorii, ducând la dezvoltarea stresului oxidativ (OS), deteriorarea ADN-ului și apoptoza celulelor germinale. Fumul de tutun este un mutagen și un aneugen al spermatozoizilor, astfel mutațiile genetice pot fi transferate descendenților [199]. Pe lângă expunerea la vicii, un rol important îl au noxele (în special cele chimice) legate cu activitatea profesională a taților: este demonstrată asocierea dintre riscul crescut de anencefalie și expunerea la solvenții organici, hilați, compuși alchilfenolici, erbicide și pesticide [200].

Un alt aspect investigat mai frecvent este masa corporală paternă. Se cunoaște că IMC influențează preconcepțional calitatea spermei, precum și amprentarea genomică în celulele germinale, cu un impact mare asupra sănătății fătului, a placentei și a descendenților [195]. A fost demonstrată o scădere semnificativă a metilării în rândul nou-născuților cu tați obezi în regiunile metilate IGF2 (DMR) în ADN-ul extras din leucocitele din sângele cordonului ombilical [201]. În acest context, este de menționat și rolul prezenței diabetului la tată. Astfel, anterior s-a identificat că placenta fetușilor de sex masculin de la tați diabetici a prezentat o creștere a rezervei lipidice și a expresiei ARNm a enzimelor implicate în oxidarea lipidelor și căile de transport [202]. Giannubilo et al. (2024), de asemenea, înaintează o nouă ipoteză bazată pe sinteza dovezilor privind influența sănătății paterne asupra dezvoltării fătului, iar impactul diferitelor patologii paterne nu doar asupra calității materialului spermatic, ci și asupra dezvoltării intrauterine a fătului au fost atribuite de către autori unui „*conflict matern-patern*” – o ipoteză din perspectiva evolutivă a omului ca specie [195].

Totuși, este de menționat și o limitare a studiului, dat fiind faptul că unii dintre factorii clasici cunoscuți ca teratogeni nu au părut destul de semnificativi, posibil din cauza prevalenței scăzute a acestor condiții în eșantion. De asemenea, deoarece investigarea absenței/prezenței acestor factori s-a bazat pe anchetare, au fost posibile omisiuni în colectarea informației (de exemplu, unele mame ar fi putut să nu declare medicația folosită). Aceste limitări subliniază că în designul unui viitor studiu axat pe acești factori și riscul de MCSN este necesară o colectare riguroasă a datelor, cu verificarea gradului de expunere la factorii de risc (în special noxe și poluanți), deoarece efectul acestora depinde de doză.

În ansamblu, studiul caz-control demonstrează că riscul apariției malformațiilor congenitale ale SNC este determinat de o cumulare de factori sociodemografici, comportamentali și medicali. Rezultatele noastre au confirmat datele cunoscute (de ex., legătura dintre obezitate și defectele de tub neural) și aduc pe primul plan contextul local (de ex., rolul vulnerabilității economice în Moldova). Aceste constatări arată necesitatea unei abordări multidisciplinare și multisectoriale în

prevenirea MCSN: pe lângă suplimentarea cu acid folic, este importantă optimizarea stării de sănătate a femeii/cuplului înainte de concepție (tratarea anemiilor, a infecțiilor, controlul greutății), consilierea privind evitarea factorilor nocivi (tutun, alcool, medicamente contraindicate) și îmbunătățirea condițiilor socioeconomice. Numai acționând simultan asupra acestor variabile se poate obține o reducere durabilă a incidenței MCSN.

În cadrul studiului, am explorat relațiile nosologice și clinice în cadrul malformațiilor congenitale ale sistemului nervos pentru a identifica tipare de asociere și frecvența comorbidităților neurologice asociate.În grupul de studiu, distribuția formelor de MCSN, conform clasificării ICD-10, a fost următoarea (în ordine descrescătoare a frecvenței): *hidrocefalie congenitală* (75,71%), *chist cerebral* (24,29%), *craniostenoză* (17,14%), *spină bifidă* și *meningomielocel congenital* (11,43%), *microcefalie* (10%), *hipogenezie/hipoplazie a corpului calos* și *agenezie a corpului calos* (8,57%), *sindrom Arnold-Chiari* (2,86%) și *atrofie cerebeloasă* (1,43%). În eșantionul analizat nu au fost înregistrate cazuri cu *sindrom Dandy-Walker*.

Marinau et al. (2017) au publicat rezultatele analizei retrospective a cazurilor de MCSN în Clinica Pediatrică II din Craiova, România, în perioada investigată fiind identificate 87 de cazuri, dintre care cele mai frecvente au fost microcefalia (46 cazuri, 52,78%), hidrocefalia (21 cazuri, 24,13%), alte MCSN (sindromul Dandy Walker, agenezia corpului calos, holoprosencefalia etc.) fiind raportate izolat [203]. Date similare au fost colectate și de către Popa et al. (2015) în județele Vaslui și Bacău, în perioada de referință 2006-2013. Autorii au identificat că malformațiile sistemului nervos reprezentau 2,24-3,71% din numărul total de anomalii congenitale, iar cele mai frecvente MCSN au fost spina bifidă (38 cazuri) și hidrocefalia (20 cazuri) [204]. În studiul realizat de Wertelecki et al. (2014) privind MCSN în Regiunea Rivne (Ucraina), în perioada 2000-2009, s-au constatat 309 cazuri de MCSN din 145.437 de nașteri. Autorii au relevat că cel mai des s-au observat spina bifidă (162 cazuri, 52,42%), microcefalia (68 cazuri, 22%) și anencefalia (66 cazuri, 21,36%). Astfel, s-a presupus influența catastrofei de la Cernobîl ca un prim factor ce face ca această regiune să fie în lista celor cu cea mai înaltă frecvență a MCSN din Europa [205]. În alt studiu privind Regiunile Rivne și Volîn, realizat în anii 2000-2002, a raportat că aici se atestă o prevalență a sarcinilor cu copii cu DTN de patru ori mai mare, care era atribuită de autori unei deficiențe severe de folat în populația ucraineană și lipsei politicilor de fortificare a făinii cu acid folic în perioada dată [206].

Într-un studiu efectuat în Maroc de Adri et al. (2024) pe un lot de 63 de nou-născuți din regiunea Marrakech-Safi (anul calendaristic 2022), s-a identificat următoarea ierarhie după frecvența MCSN: hidrocefalie (36,50%) > anencefalie (31,74%) > spină bifidă (25,39%) > encefalocel (3,17%) > microcefalie (3,17%) [67]. În studii populaționale din alte țări, de asemenea, s-a stabilit că MCSN sunt cele mai frecvente malformații congenitale (25-52,65%), în India și

Arabia Saudită, anencefalia fiind cea mai des întâlnită malformație (40-50%) [194,207]. În Kharian, Pakistan, Hussain et al. (2014), într-o perioadă de 18 luni, au identificat 226 de nou-născuți cu malformații congenitale (7% din numărul total de nașteri), dintre care 20,35% cu MCSN, iar 76,08% cazuri erau doar cu meningomielocel sau în asociere cu hidrocefalia, urmat de 10,87% cazuri cu microcefalie, encefalocel în 6,52% cazuri, cu cazuri unitare de anencefalie și alte malformații [181].

Distribuția procentuală a diferitelor forme de malformații congenitale ale sistemului nervos variază considerabil între regiunile geografice (chiar și la nivel de aceeași țară datorită diferitelor etnii) [194], iar aceste diferențe pot fi explicate printr-o serie de factori biologici, demografici, sociomedicali și metodologici. În primul rând, profilul genetic al populației poate influența susceptibilitatea la anumite tipuri de malformații. În al doilea rând, factorii de mediu și expunerile teratogene (infecții materne, deficit de acid folic, expunere la toxice, radiații, condiții de viață precare) au o pondere diferită în funcție de nivelul de dezvoltare economică, de accesul la îngrijiri prenatale, precum și de obiceiurile culturale sau alimentare ale populației. Un alt factor este gradul de diagnosticare și raportare: unele regiuni beneficiază de registre naționale de monitorizare a malformațiilor (de ex., EUROCAT în Europa Occidentală), dotări imagistice performante (IRM fetal, ultrasonografie morfologică de înaltă rezoluție) și protocoale standardizate de screening. În lipsa acestora, anumite MCSN pot rămâne nediagnosticate. De asemenea, metodologia de includere a cazurilor (perioada de monitorizare, vârsta la diagnosticare, includerea cazurilor postnatale tardive etc.) și criteriile nosologice aplicate (ICD-10, OMS) pot crea variații în frecvențele raportate. Structura serviciilor de sănătate perinatală și practica avortului terapeutic pot influența prevalența formelor severe de MCSN observată la naștere. În regiunile în care diagnosticul prenatal este frecvent urmat de întreruperea sarcinii în cazurile grave, prevalența la naștere a acestor forme va fi mult mai scăzută decât în regiunile unde astfel de practici sunt rare sau interzise. Prin urmare, variațiile procentuale ale diferitelor forme de MCSN între regiuni reflectă o interacțiune complexă între factorii genetici, epigenetici, socioeconomici, culturali și sistemici, ceea ce justifică necesitatea unor analize contextuale în interpretarea datelor epidemiologice.

În cadrul studiului curent au fost identificate cazuri clinice cu asocierea multiplelor forme de MCSN, după cum urmează: un singur tip de MCSN la 38,6% din pacienți (n = 27), două tipuri de MCSN la 51,4% (n = 36) și trei tipuri de MCSN în 10% din cazuri (n = 7). În literatura de specialitate nu este studiată suficient această problemă în raport cu toate subtipurile de MCSN, majoritatea studiilor publicate axându-se pe aprecierea prevalenței în diferite populații/regiuni, astfel rareori este investigată asocierea sau prezența simultană a mai multor tipuri de MCSN.

De asemenea, dat fiind faptul că prevalența anumitor forme de MCSN variază mult în funcție de perioada investigată și de populație, sunt puține studii care să includă toate formele de MCSN în eșantioane reprezentative. Însă, investigarea acestor potențiale asocieri între diferite afecțiuni este importantă pentru a deduce noi mecanisme și factori care duc la apariția acestor situații clinice.

În literatura de specialitate, una dintre asocierile bine fundamentate între diferite forme de MCSN este cea dintre spina bifidă (mielomeningocel) și malformațiile Arnold-Chiari II. Conform lui Kuhn et al. [208], majoritatea pacienților cu mielomeningocel prezintă și malformații de tip Chiari II, precum și hidrocefalie. În eșantionul investigat de noi s-au atestat două cazuri de tripatologie (*hidrocefalie + spina bifidă + sindrom Arnold-Chiari*) și șase cazuri de bipatologie (*hidrocefalie + spina bifidă*). Anterior a fost propusă „*teoria unificată”* (engl. *unified theory*) privind apariția malformațiilor de tip Chiari II la copiii cu mielomeningocel, bazată pe lipsa distensiei sistemului ventricular embrional, astfel, ocluzia insuficientă și tubul neuronal deschis provoacă acumularea lichidului cefalorahidian (LCR) și creșterea presiunii asupra veziculelor craniene [209]. Ulterior, în 2008, a fost propusă o nouă ipoteză privind *hidrocefalia, malformațiile Chiari, siringomielia, anencefalia* și *spina bifidă* în cadrul lucrărilor Societății de Cercetare a Hidrocefaliei și Spinei Bifida din Germania [210]. Conform teoriei date, se propune ca hidrocefalia să fie interpretată ca rezultat al drenajului venos inadecvat al sistemului nervos central. Astfel, se formează un cerc vicios, prin care orice creștere a presiunii venoase duce la creșterea volumului SNC și viceversa. Acest fenomen are potențialul de a provoca o creștere progresivă a volumului lichidului cefalorahidian, iar obstrucția fluxului acestuia provoacă creșteri localizate ale presiunii, care au un efect advers asupra drenajului venos. Astfel, se presupune că hipoplazia fosei posterioare provoacă siringomielie după naștere și duce la deteriorarea măduvei spinării în spina bifidă. Se presupune că hidrocefalia poate apărea ca urmare a hipoplaziei fosei posterioare, unde presiunea crescută apare ca urmare a obstrucției fluxului de LCR, iar leziunile cerebrale cu presiune crescută apar în anencefalie prin acest mecanism. De asemenea, disrafismul (spina bifidă) este o manifestare a hidrocefaliei progresive la făt, dat fiind faptul că presiunea redusă în SNC și expunerea la lichidul amniotic duce la lezarea SNC. Astfel, autorii afirmă că insuficiența de creștere mezodermală influențează atât închiderea tubului neural, cât și presiunea în SNC, ducând la disrafism [210]. Această teorie este susținută și de observațiile clinice privind asocierea altor malformații cerebrale la pacienți cu spină bifidă, în special în cazurile de *spina bifidă aperta* și mai rar în *spina bifidă occulta*, acestea având și consecințe precum reducerea performanței cognitive [211].

Este de menționat că în cadrul studiului curent am identificat, prin metoda PCA, două clustere de MCSN cu vectorii *eigen* apropiați: 1) agenezia corpului calos/meningomielocel congenital/craniostenoza; 2) spina bifidă/sindromul Arnold-Chiari. Rezultatele noastre privind

clusterul doi sunt confirmate de datele recente din literatura de specialitate, unde se menționează că multe alte anomalii cerebrale congenitale tind să se grupeze, deși unele fac parte din sindroame bine cunoscute. Astfel, în studiul Wertelecki et al. (2014) s-a observat că din cele 509 cazuri de MCSN depistate în Regiunea Rivne (anii 2000-2009), doar 386 erau MCSN izolate, în rest fiind prezente diferite combinații dintre aceste defecte [205], în special s-a observat că doar 32,35% din cazurile de microcefalie erau izolate, iar aproximativ 11,11- 42,10% din subtipurile de spină bifidă se prezentau în asociere cu alte MCSN.

Astfel, atunci când este prezentă o malformație structurală a SNC, nu este neobișnuit să se depisteze și alte anomalii suplimentare în sistemul nervos, datorate căilor de dezvoltare comune sau etiologiilor genetice. Identificarea acestor co-prezențe de afecțiuni nosologice distincte este importantă, deoarece poate îmbunătăți acuratețea diagnosticării și poate ghida gestionarea [212].

De asemenea, în cadrul studiului curent am examinat frecvența patologiilor neurologice concomitente și asocierea acestora cu anumite forme de MCSN. Distribuția acestora a fost ierarhizată după cum urmează: epilepsia simptomatică a fost cea mai frecventă (41,43%), urmată de tetraplegie (27,14%), retard psihomotor sever (24,29%), paraplegie flască (17,14%), tetrapareză (12,86%), strabism congenital (10%), edem cerebral (5,71%), sindrom West (4,29%), sindrom bulbar (2,86%) și hemiplegie/hemipareză spastică (1,43%). Nu s-au înregistrat cazuri de paralizie cerebrală infantilă. În ceea ce privește numărul patologiilor concomitente (PC) identificate per caz, distribuția a fost următoarea: în 15,71% din cazuri nu a fost prezentă nicio PC, în 38,57% a fost identificată o singură PC, în 32,86% - două PC, în 8,57% - trei PC, în 2,86% - patru PC, iar în 1,43% s-au înregistrat cazuri cu cinci PC. Analiza statistică a relevat mai multe asocieri semnificative între anumite forme de MCSN și patologiile neurologice concomitente. Corelații puternice s-au înregistrat între spina bifidă și paraplegia flască. Corelații moderate au fost identificate între atrofia cerebrală și strabismul congenital, sindromul Arnold-Chiari și paraplegia flască, precum și între microcefalie și tetraplegie. Corelații slabe au fost observate între hipogenezia/hipoplazia corpului calos și strabismul congenital, respectiv sindromul bulbar. Este de menționat că dimensiunea redusă a lotului nu ne-a permis realizarea unor explorări statistice privind asocierile dintre factorii de risc (materni/paterni, intrauterini, de mediu) și patologiile neurologice asociate, totuși, în literatura de specialitate se menționează legăturile dintre malformațiile congenitale cerebrale epileptogene și infecțiile din complexul TORCH și citomegalovirus în timpul sarcinii [213].

În literatura medicală este confirmat frecvent faptul că malformațiile congenitale ale sistemului nervos nu apar ca nosologii unitare. Astfel, persoanele cu MCSN se confruntă frecvent cu afecțiuni neurologice suplimentare (cum ar fi epilepsia, paralizia sau dizabilitățile de dezvoltare) și pot face parte din tulburările sindromice mai ample, care implică și alte sisteme. În

acest context, cel mai bine este investigată asocierea epilepsiei cu MCSN [191]. Astfel, dovezile curente relevă că 40% din cazurile de epilepsie refractară se atestă la persoanele cu MCSN [214] și viceversa: 75% din pacienții cu MCSN vor dezvolta epilepsie [215]. O particularitate clinică evidențiată la acești pacienți este legată de debutul timpuriu al epilepsiei în copilărie, precum și de intensitatea acestuia (episoade mai frecvente și severe), care sunt asociate cu apariția unor complicații mai grave (alte comorbidități, în special deficitul cognitiv) [191]. Totuși, mecanismele de asociere dintre MCSN și diferite comorbidități neurologice nu sunt încă elucidate suficient. Pentru cazurile de MCSN asociate cu epilepsie, actualmente sunt propuse câteva mecanisme în baza datelor clinice și experimentale (pe animale): genetic, structural (dezvoltarea anormală a rețelelor neuronale) și celular (asociat cu organizarea celulară și modificările moleculare) [215]. Rezultatele acestor cercetări subliniază complexitatea și caracterul multifactorial al malformațiilor congenitale ale sistemului nervos, evidențiind necesitatea unei abordări clinice integrate și a aprofundării cercetărilor privind mecanismele etiopatogenice care stau la baza asocierii lor cu diverse comorbidități neurologice.

În cadrul studiului curent, s-a realizat o evaluare a distribuției diferitelor variante ale genelor ciclului folatului (*MTHFR677*, *MTHFR1298*, *MTR2756*, *MTRR66*) la mamele copiilor din lotul de control versus mamele copiilor cu MCSN (inclusiv formele folat-dependente - FMCSN). Argumentarea acestei analize constă în faptul că printre determinanții majori ai MCSN se numără perturbările metabolismului folatului, proces de bază în fazele timpurii ale embriogenezei prin implicarea în sinteza ADN, metilarea epigenetică și repararea genomică. Având în vedere factorii de mediu, genele implicate în metabolismul folatului reprezintă cei mai importanți candidați genetici în apariția defectelor de tub neural (DTN) [17]. Printre genele cu o asociere mai strânsă cu DTN se numără MTHFR, ALDH1A2, ADA și MTR, toate acestea codificând enzime implicate în calea metabolică a acidului folic. Metabolismul acidului folic și furnizarea grupărilor metil formează o rețea biomoleculară extrem de complexă, rezultată din interacțiunea mai multor factori și mecanisme. Prin urmare, analiza izolată a unui singur marker sau locus genetic rareori oferă rezultate concludente. Polimorfismele mononucleotidice (SNP) reprezintă cele mai frecvente variații ereditare din genomul uman, apărute prin înlocuirea unui singur nucleotid. Acestea nu doar că pot servi ca markeri genetici pentru identificarea genelor asociate bolilor, ci pot fi ele însele cauze directe ale patologiilor. Astfel, în practica clinică, SNP-urile sunt considerate elemente esențiale în evaluarea timpurie a riscului de boală, precum și în diagnosticare și prevenire [17].

În acest context, vom compara rezultatele noastre cu cele ale studiilor din literatura de specialitate, care au avut un design similar. Gena *MTFHR677* codifică enzima 5,10-metilentetrahidrofolat-reductaza, esențială pentru conversia 5,10-metilentetrahidrofolatului în 5-metiltetrahidrofolat - cofactor-cheie în remetilarea homocisteinei la metionină. Polimorfismul

677C>T determină o formă termolabilă a enzimei, cu activitate redusă. Genotipul CC este considerat normal, cu activitate enzimatică integrală, CT este asociat cu o reducere moderată a activității (risc intermediar), iar TT determină scăderi semnificative (~30-40%) din activitatea normală, fiind asociat cu hiperhomocisteinemie și risc crescut de manifestări clinice [216,217]. Numeroase studii și metaanalize au evidențiat asocierea dintre genotipul TT matern și un risc crescut de defecte ale tubului neural la făt, mai ales în contextul unui aport insuficient de folat. Suplimentarea periconcepțională cu acid folic atenuează semnificativ acest efect [21].

În studiul nostru s-a observat următoarea distribuție pentru variantele de genotip ale genei *MTHFR677*: la mamele copiilor cu MCSN, genotip normal CC - 38,6%; genotip heterozigot mutant CT - 45,7%; genotip homozigot mutant TT - 15,7%; la mamele copiilor cu FMCSN, genotip normal CC - 37,5%; genotip heterozigot mutant CT - 56,3%; genotip homozigot mutant TT - 6,3%; la femeile din lotul de control, genotip normal CC - 77,1%; genotip heterozigot mutant CT - 20%; genotip homozigot mutant TT - 2,9%. În studiul realizat de Visternicean E. (2018) privind frecvența polimorfismelor genei *MTHFR677*, s-au observat următoarele: la femeile cu avort spontan recurent, genotip normal CC - 35,08±6,32%; genotip heterozigot mutant CT – 50,88±6,62%; genotip homozigot mutant TT - 14,04±4,60%; la femeile din lotul de control, genotip normal CC - 73,68±5,83%; genotip heterozigot mutant CT - 26,32±5,83% [218]. În studiile realizate în Ucraina [219] pe populațiile generale de femei, s-a observat următoarea frecvență a polimorfismelor genei MTHFR 677: genotip homozigot normal CC - 54%; genotip heterozigot normal cu alele cu funcționalitate redusă CT - 41%; genotip homozigot cu alele cu funcționalitate redusă TT - 5%. În Ankara, Turcia [220], s-a atestat următoarea frecvență a polimorfismelor genei MTHFR 677: populația generală fără anamneză personală/familială de MCSN (n = 76): CC - 44 (57,89%); CT - 24 (31,57%); TT - 8 (10,52%); mamele copiilor cu MCSN (n = 49): CC - 26 (53,06%); CT - 20 (40,81%); TT - 3 (6,12%); copiii cu MCSN (n = 56): CC - 22 (39,28%); CT - 29 (51,78%); TT - 5 (8,92%).

Gena *MTFHR1298* codifică enzima 5,10-metilentetrahidrofolat-reductaza, implicată în metabolismul folatului și remetilarea homocisteinei. Polimorfismul 1298A>C determină o reducere a activității enzimatice cu aproximativ 20-35% față de normă. Genotipul AA este considerat normal, AC prezintă risc intermediar prin scăderea moderată a funcției enzimatice, iar CC este asociat cu reducerea mai pronunțată a activității și cu risc patologic. Prevalența alelei C în populațiile europene este estimată la 10-15%, iar frecvența genotipurilor heterozigote și homozigote variază între 15% și 20%. Izolat, polimorfismul 1298A>C rareori determină hiperhomocisteinemie severă, dar în combinație cu varianta 677C>T poate duce la scăderea cumulativă a activității enzimatice cu până la 50-60%, asociindu-se cu un risc crescut de defecte de tub neural, malformații cardiovasculare și complicații obstetricale [32, 90].

În studiul nostru s-a observat următoarea distribuție a variantelor de genotip ale genei *MTHFR1298*: la mamele copiilor cu MCSN, genotip normal AA – 54,3%; genotip heterozigot mutant AC - 42,9%; genotip homozigot mutant CC - 2,9%; la mamele copiilor cu FMCSN, genotip normal AA - 43,8%; genotip heterozigot mutant AC - 50%; genotip homozigot mutant CC - 6,3%; la femeile din lotul de control, genotip normal AA - 84,3%; genotip heterozigot mutant AC - 12,9%; genotip homozigot mutant CC - 2,9%. În studiul realizat de Visternicean E. (2018) privind frecvența polimorfismelor genei *MTHFR1298*, s-au observat următoarele [218]: la femei cu avort spontan recurent, genotip normal AA - 42,11±6,53%; genotip heterozigot mutant AC - 47,36±6,61%; genotip homozigot mutant CC - 10,53±4,06%; la femeile din lotul de control, genotip normal AA - 80,70±5,22%; genotip heterozigot mutant AC - 17,55±5,03%; genotip homozigot mutant CC - 1,75±0,98%.

Gena *MTR2756* codifică o enzimă intracelulară esențială în procesul de remetilare a homocisteinei în metionină, utilizând 5-metiltetrahidrofolatul ca donor de grupări metil și vitamina B12 ca factor de coenzimă. Această reacție are un rol fundamental în menținerea homeostaziei ciclului metioninei și în asigurarea rezervelor de grupări metil necesare proceselor epigenetice. Polimorfismul 2756A>G al genei determină o substituție aminoacidică, cu impact asupra activității enzimatice. Din punct de vedere genetic, genotipul AA este considerat normal, în timp ce genotipurile AG și GG sunt asociate cu reducerea eficienței enzimei și cu o creștere moderată a nivelului plasmatic de homocisteină. Această creștere este mai pronunțată la indivizii cu deficit de folat sau de vitamină B12, sugerând o interacțiune între factorii genetici și cei nutriționali în reglarea metabolismului homocisteinei [221].

În studiile făcute în Ucraina pe populațiile generale de femei, s-a observat următoarea frecvență a polimorfismelor genei *MTRR66*: genotip homozigot normal AA - 26%; genotip heterozigot normal cu alele cu funcționalitate redusă AG - 37%; genotip homozigot cu alele cu funcționalitate redusă GG - 37%. În Ankara, Turcia [220], s-a atestat următoarea frecvență a polimorfismelor genei MTHFR 1298 în populația generală fără anamneză personală/familială de MCSN (n = 76): AA - 36 (47,36%); AC - 36 (47,36%); CC - 4 (5,26%); mamele copiilor cu MCSN (n = 49): AA - 14 (28,57%); AC - 28 (57,14%); CC - 7 (14,28%); copiii cu MCSN (n = 56): AA - 31 (55,35%); AC - 16 (28,57%); CC - 9 (16,07%) [219].

În studiul nostru s-a observat următoarea distribuție pentru variantele de genotip ale genei *MTR2756*: la mamele copiilor cu MCSN, genotip normal AA - 55,7%; genotip heterozigot mutant AG - 41,4%; genotip homozigot mutant GG - 2,9%; la mamele copiilor cu FMCSN, genotip normal AA - 56,3%; genotip heterozigot mutant AG - 43,8%; la femeile din lotul de control, genotip normal AA - 81,4%; genotip heterozigot mutant AG - 17,1%; genotip homozigot mutant GG - 1,4%. În studiul realizat de Visternicean E. (2018) privind frecvența polimorfismelor genei

MTR2756, s-au observat următoarele [218]: la femeile cu avort spontan recurent, genotip normal AA - 66,67±6,24%; genotip heterozigot mutant AG - 28,07±5,95%; genotip homozigot mutant GG - 5,26±2,95%; la femeile din lotul de control, genotip normal AA - 92,98±3,38%; genotip heterozigot mutant AG - 7,02±3,38%. În studiile făcute în Ucraina [219] pe populațiile generale de femei, s-a constatat următoarea frecvență a polimorfismelor genei *MTR2756*: genotip homozigot normal AA - 43%; genotip heterozigot normal cu alele cu funcționalitate redusă AG - 39%; genotip homozigot cu alele cu funcționalitate redusă GG – 18%. În Ankara, Turcia [220], s-a atestat următoarea frecvență a polimorfismelor genei MTR 2756: populația generală fără anamneză personală/familială de MCSN (n = 76): AA - 39 (51,31%); AG - 31 (40,78%); GG - 5 (6,57%); mamele copiilor cu MCSN (n = 49): AA - 31 (63,26%); AG - 14 (28,57%); GG - 4 (8,16%); copiii cu MCSN (n = 56): AA - 38 (67,85%); AG - 17 (30,35%); GG - 1 (1,78%).

Gena *MTRR66* codifică metionin-sintaza reductaza, o enzimă implicată în menținerea activității metionin-sintazei prin regenerarea formei sale metilate, indispensabilă procesului de remetilare a homocisteinei în metionină. Polimorfismul 66A>G provoacă reducerea stabilității și funcționalității enzimei, având consecințe asupra ciclului metioninei și a homeostaziei homocisteinei. Genotipul AA este considerat normal, în timp ce genotipurile AG și GG sunt clasificate drept „patologice”, cel din urmă fiind asociat cu un risc mai pronunțat de hiperhomocisteinemie. Acest efect este potențat în prezența polimorfismului MTHFR 677C>T, ceea ce indică o interacțiune epistatică între aceste variante genetice. Datele din literatură evidențiază faptul că polimorfismul MTRR 66A>G este asociat cu o dublare a riscului de defecte de tub neural, inclusiv spina bifidă, sugerând un impact relevant în patogeneza malformațiilor congenitale dependente de metabolismul folatului și al metioninei [222,223].

În studiul nostru s-a constatat următoarea distribuție pentru variantele de genotip ale genei *MTR66*. la mamele copiilor cu MCSN, genotip normal AA - 15,7%; genotip heterozigot mutant AG - 48,6%; genotip homozigot mutant GG - 35,7%; la mamele copiilor cu FMCSN, genotip normal AA - 12,5%; genotip heterozigot mutant AG - 50%; genotip homozigot mutant GG - 37,5%; la femeile din lotul de control, genotip normal AA - 40%; genotip heterozigot mutant AG - 38,6%; genotip homozigot mutant GG - 21,4%. În studiul realizat de Visternicean E. (2018) privind frecvența polimorfismelor genei *MTR66*, s-au observat următoarele [218]: la femeile cu avort spontan recurent, genotip normal AA - 33,33±6,24%; genotip heterozigot mutant AG - 43,86±6,57%; genotip homozigot mutant GG - 22,80±5,55%; la femeile din lotul de control, genotip normal AA - 85,97±4,60%; genotip heterozigot mutant AG - 10,53±4,06%; genotip homozigot mutant GG - 3,50±2,43%. Este de menționat că această genă (*MTR66*) este mai rar inclusă în studii de tip caz-control în literatura de specialitate, dat fiind faptul că deseori nu este inclusă în panourile genetice standard din cauza rezultatelor mai variabile la investigarea acesteia

[224]. Este de menționat că și rezultatele curente privind asocierea polimorfismelor *MTR66* cu riscul de MCSN sunt incerte și inconsistente. Astfel, în metaanaliza realizată de Ouyang et al. (2013) în baza a 13 studii (1298 de cazuri de copii cu MCSN și 2237 de copii în lotul de control) nu s-au acumulat dovezi suficiente pentru a susține asocierea dintre *MTRR A66G* și riscul de MCSN la copiii de origine europeană (după modele atât genice, cât și alelice) [225]. Totuși, în altă metaanaliză din același an, cuprinzând 85 de studii de tip caz-control, s-au identificat dovezi convingătoare privind asocierea cu riscul de MCSN doar pentru, celelalte gene având un efect insuficient de semnificativ după modelele dominant, recesiv și alelic [224]; totuși, autorii au investigat studii făcute pe diferite populații (inclusiv din Europa, Asia etc.). Almekkawi et al. (2022) au realizat o revizuire sistematică a studiilor privind polimorfismele SNP și asocierea cu DTN, incluzând 59 de studii caz-control în metaanaliza lor [226], care însă nu a cuprins studii privind polimorfismele parentale la frați/surori sau la gemeni. Această metaanaliză a reconfirmat dovezile puternice privind asocierea dintre *MTHFR C677T* și riscul de MCSN, iar pentru populațiile asiatice, de asemenea, s-a confirmat o nouă posibilă legătură între RFC A80G și riscul de a dezvolta DTN. Totuși, faptul că în studiul nostru analizele s-au bazat exclusiv pe profilul genetic matern, poate reflecta fie un efect direct transmis asupra fătului prin intermediul metabolismului matern al folatului, fie un efect epigenetic indirect asupra dezvoltării sistemului nervos. Lipsa genotipurilor fetale limitează însă posibilitatea de a diferenția între aceste mecanisme, aceasta necesitând studii ulterioare, cu un design direcționat și complex și pe eșantioane mai mari, în special cu o abordare multicentrică (în contextul populației reduse a RM). Este de menționat că în studiul curent, deși au fost observate unele diferențe procentuale între genotipurile analizate în subgrupurile MCSN, acestea nu au fost suficient de semnificative din punct de vedere statistic, ceea ce sugerează o bază genetică comună pentru FMCSN și celelalte forme de MCSN, cu anumite nuanțe de risc diferențiat matern, reflectate prin variații ale valorilor OR.

Astfel, după cum se vede în populația generală, precum și în diferite eșantioane investigate în studii caz-control din literatura de specialitate, distribuția acestor variante de genotip (polimorfisme ale genelor *MTHFR677*, *MTHFR1298*, *MTR2756* și *MTR66*) este diferită. Acest lucru, în primul rând, se datorează diversității genetice a populațiilor, care, la rândul ei, este influențată de multipli factori. Designul divers al studiilor de tipul dat din literatura de specialitate, precum și particularitățile de diversitate genetică, fac dificilă compararea rezultatelor acestor studii. Este de menționat că și criteriile de selecție a participanților sunt foarte diverse în aceste cercetări, ceea ce nu întotdeauna permite ca loturile de control să fie comparabile între studii. De asemenea, numeroase astfel de studii sunt realizate pe eșantioane mai reduse, fapt ce poate duce la o marjă de eroare statistică, care s-ar reflecta și în variațiile mari dintre studii. În cazul studiului nostru, am calculat și echilibrul Hardy-Weinberg pentru a asigura validitatea eșantionării. De

asemenea, având în vedere că investigațiile genetice au progresat foarte mult din punct de vedere tehnologic, compararea rezultatelor din studii care au utilizat diferite metode de detecție genetică și diferită metodologie de interpretare a rezultatelor poate limita validitatea concluziilor.

În studiul nostru, probabilitatea/șansa ca mama să prezinte alela T față de C pentru gena *MTHFR 677* (modelul multiplicativ de moștenire) a fost cu OR de 4,26 (IÎ$_{95\%}$ 2,33-7,76; p = 9,0e-07), pe când în studiul realizat de Kumari et al. (2022) pe o populație est-indiană (orașul Patna, statul Bihar), s-a înregistrat o valoare a OR de 1,9 (IÎ$_{95\%}$ 1,2-2,8; p = 0,003). În studiul nostru am aplicat modelul general de moștenire, prin care în cazul genotipului CT exista o șansă de 3,37 ori mai mare să fie prezent la mamele copiilor cu MCSN (IÎ$_{95\%}$ 1,59-7,14; p = 1,0e-05), iar în studiul indian, acest lucru s-a analizat prin prisma modelului heterozigot (CT vs CC), unde s-a observat, de asemenea, un raport al șanselor statistic semnificativ (OR = 1,8; IÎ$_{95\%}$ 1,1-2,9; p = 0,013). Pentru modelul dominant de moștenire (CT+TT vs CC), în studiul nostru am avut un OR de 5,38 (IÎ$_{95\%}$ 2,57-11,23; p = 4,0e-0,6), pe când în studiul indian s-a înregistrat o valoare a OR de 1,9 (IÎ$_{95\%}$ 1,2-2,9; p = 0,007). Este de menționat că, în ambele studii, șansa de a avea alela C, în special în varianta homozigotă CC, nu a prezentat o semnificație statistică. În studiul nostru, genotipurile ce includ alela T au avut o șansă mai mare să fie prezente la mamele copiilor cu MCSN, atât pentru varianta heterozigotă CT (raport al șanselor semnificativ - OR = 3,37; IÎ$_{95\%}$: 1,59-7,14), cât și pentru cea homozigotă TT (raport al șanselor semnificativ - OR = 6,34; IÎ$_{95\%}$: 1,35-29,76). Anterior, într-un studiu caz-control din China, a fost relevat că polimorfismul genetic MTHFR 677C>T este asociat cu prezența defectelor de tub neural la copiii femeilor gravide (P <0,05), ceea ce ar sugera că varianta 677C>T reprezintă un factor de risc [17].

Integrarea datelor din meta-analize și revizuiri sistematice permite contextualizarea rezultatelor noastre privind rolul background-ului genetic matern și al interacțiunilor gene–mediu în etiopatogenia MCSN. Conform literaturii, evaluarea determinanților genetici parentali este o direcție validată, polimorfismele din calea metabolismului folatului (*MTHFR C677T, MTHFR A1298C, MTR A2756G, MTRR A66G*) fiind descrise ca factori de susceptibilitate cu efect moderat și heterogen, influențat de particularități populaționale și de statusul folatului [34,227]. În concordanță cu aceste date, studiul nostru evidențiază contribuția variantelor materne la modelarea susceptibilității pentru MCSN, însă fără a susține un efect determinant izolat al unui singur polimorfism.

În studiul nostru, șansa ca mama să prezinte alela G față de A pentru gena MTHFR 2756 (modelul multiplicativ de moștenire) a avut un OR statistic semnificativ de 2,78 (IÎ$_{95\%}$ 1,41-5,46; p = 0,002), pe când în studiul realizat de Kumari et al. (2022) s-a înregistrat o valoare nesemnificativă statistic a OR de 1,08 (IÎ$_{95\%}$ 0,8-1,5; p = 0,641) [17]. În studiul nostru am aplicat modelul general de moștenire, prin care în cazul genotipului AG exista o șansă de 3,42 ori mai

mare de a fi prezent la mamele copiilor cu MCSN (IÎ$_{95\%}$ 1,56-7,48; p = 0,005), iar în studiul indian, acest aspect a fost analizat prin prisma modelului heterozigot (AG vs AA) și s-a observat, de asemenea, un raport al șanselor statistic semnificativ (OR = 1,6; IÎ$_{95\%}$ 1,0-2,4; p = 0,029). Pentru modelul dominant de moștenire (AG+GG vs. AA), în studiul nostru am avut un OR statistic semnificativ de 3,49 (IÎ$_{95\%}$ 1,62-7,49; p = 0,001), pe când în studiul indian s-a înregistrat o valoare statistic nesemnificativă a OR de 1,37 (IÎ$_{95\%}$ 0,9-2,0; p = 0,124). În ambele studii, șansa de a avea alela A, în special în varianta homozigotă AA, nu a prezentat semnificație statistică [65].

Este de menționat că în studiul nostru am utilizat investigații statistice cu modele de moștenire genetică mai variate (multiplicativ, general, aditiv, dominant, recesiv), care permit identificarea unor efecte mai detaliate. În multiple studii de tip caz-control din literatura de specialitate, investigațiile se axează pe modele mai simple (homozigot/heterozigot), ceea ce poate duce la subestimări ale asocierilor identificate prin modele mai complexe. Totuși, studii pe eșantioane extinse și bine controlate, cu utilizarea a multiple modele de moștenire, sunt puține din cauza costurilor ridicate. Aceasta ar putea explica parțial diferențele de OR dintre rezultatele noastre și cele din literatura de specialitate. Totuși, se pare că diversitatea etnică și genetică regională ar fi cel mai puternic factor care influențează diferențele privind raportul șanselor. Nu cunoaștem, la moment, cât de exprimate sunt aceste diferențe etnogeografice ale fondului genetic în Republica Moldova comparativ cu țările din regiune (Ucraina, România, Bulgaria, Turcia) și cu alte regiuni (de ex., India, China) referitor la genele și patologia studiată. Astfel, diferențele valorilor OR au reconfirmat importanța contextului geografic, etnic și, posibil, a factorilor de mediu în determinarea distribuției polimorfismelor SNP. Aceasta ar susține ideea că riscul genetic pentru MCSN poate varia semnificativ între populații și astfel se confirmă necesitatea studiilor regionale pentru elaborarea unor strategii de prevenire personalizate. Mai mult, rezultatele ar sugera că strategiile de prevenire (de ex., suplimentarea cu folat) trebuie să fie adaptate contextului genetic local, iar studiile regionale sunt indispensabile pentru politicile de sănătate perinatală și consiliere genetică.

În studiul curent, respectarea echilibrului Hardy-Weinberg în majoritatea analizelor (p >0,05) susține fiabilitatea distribuției genotipurilor și, implicit, validitatea rezultatelor obținute. Acest aspect evidențiază necesitatea extinderii cercetărilor pe eșantioane mai mari și mai variate, pentru a clarifica mai precis variabilitatea genetică observată și pentru a întări concluziile privind asocierea dintre aceste polimorfisme și riscul de MCSN, inclusiv subtipurile sale.

Un aspect important care diferențiază studiul nostru de studiile anterioare este centrarea pe genotipurile materne. Majoritatea studiilor precedente sunt centrate pe analiza polimorfismelor la copil, în timp ce aportul genotipurilor parentale - în special materne - este rar examinat sistematic în literatura de specialitate. Această lacună metodologică reduce capacitatea de a înțelege complet

interacțiunea *gene - mediu* în perioada periconcepțională, când influența materno-fetală este fundamentală. De exemplu, în metaanaliza recentă realizată de Almekkawi et al. (2022), care a inclus 59 de studii de tip caz-control, nu au fost luate în considerare analizele privind genotipurile parentale (materne/paterne) sau cazurile familiale (frați, gemeni), ceea ce limitează interpretarea etiologiei multifactoriale [226]. Totuși, având în vedere variabilitatea rezultatelor raportate în literatura de specialitate, devine evident că atât semnificația statistică a diferitelor polimorfisme implicate în metabolismul folatului, cât și direcția asocierii lor cu riscul de MCSN/DTN diferă substanțial între studii. Aceste discrepanțe pot fi atribuite atât diferențelor etnice și genetice ale populațiilor studiate, cât și abordărilor metodologice neuniforme. Toate aceste aspecte limitează posibilitatea unei sinteze coerente și comparative între studii și subliniază necesitatea unor proiecte multicentrice standardizate, care să includă simultan analiza genotipurilor materne, fetale și a factorilor de mediu, pentru a clarifica relația dintre aceste SNP-uri și riscul de malformații congenitale ale sistemului nervos.

Rezultatele obținute de noi privind asocierea genotipurilor studiate cu anumite forme clinice individuale de MCSN sugerează o tendință de agregare a unor polimorfisme specifice (în special *MTHFR 677T, MTHFR 1298C, MTR 2756G* și *MTRR 66G*) în subtipuri precum hidrocefalia, spina bifidă, meningomielocelul sau chisturile cerebrale. Totuși, aceste observații trebuie interpretate cu prudență, dat fiind volumul relativ redus al lotului și faptul că multe dintre aceste asocieri au fost deja documentate în cadrul studiilor pe întreaga grupă de malformații ale sistemului nervos, fără a se face o stratificare detaliată pe fenotip. Într-o metaanaliză comprehensivă realizată de Zhang et al. (2013), s-a evidențiat o asociere consistentă între *MTHFR C677T* și riscul de DTN [224], iar alți autori au semnalat frecvențe crescute ale variantelor mutante și în cazul subtipurilor precum spina bifidă sau anencefalia [228]. Totuși, stratificările pe forme clinice specifice sunt rare și adesea inconsistente între studii, în special din cauza dimensiunii eșantioanelor și eterogenității fenotipice. De asemenea, comparabilitatea între studii este îngreunată de faptul că unii autori analizează SNP-uri fetale, alții - materne sau paternale, utilizând modele genetice diferite.

Prin urmare, deși datele noastre au confirmat direcțiile generale raportate în literatură, valoarea lor exploratoare este mai degrabă descriptivă, subliniind necesitatea unor studii mai ample, cu stratificare standardizată pe fenotip și analiză integrată genotip - mediu - parentalitate. În ciuda limitărilor eșantionului și absenței datelor fetale, rezultatele obținute aduc o contribuție prin identificarea unor posibile asocieri între anumite genotipuri materne și subtipuri specifice de MCSN. De asemenea, observația unor frecvențe crescute simultane ale mai multor variante de risc în anumite fenotipuri sugerează necesitatea explorării unor modele poligenice sau de interacțiune gen-gen. Variabilitatea estimărilor și lipsa consensului metodologic în literatura de specialitate subliniază imperativul standardizării viitoarelor cercetări, cu includerea concomitentă a factorilor

genetici materni, fetali și a parametrilor de mediu, pentru o mai bună înțelegere a vulnerabilității la MCSN.

Astfel, în sinteză, lucrarea de față a abordat malformațiile congenitale ale sistemului nervos (MCSN), cu accent pe formele folat-dependente, în câteva direcții: studiul epidemiologic descriptiv al incidenței și caracteristicilor MCSN în populația studiată; studii caz-control privind factorii de risc pre- și postconcepționali de mediu (de ex., aportul de folat, factori materni, expuneri teratogene); studii caz-control genetice, axate pe polimorfismele implicate în metabolismul folatului și susceptibilitatea genetică; studii clinice asupra cazurilor de MCSN, incluzând aspecte de evoluție clinică (tipuri de MCSN, asocieri și comorbidități).

O primă limitare majoră a constat în dimensiunea relativ mică a eșantionului de cazuri MCSN disponibile pentru analiza atât epidemiologică, cât și clinică, în contextul situației demografice din Republica Moldova. Fiind malformații relativ rare (prevalență de ordinul a câtorva la o mie de nou-născuți), numărul redus de cazuri într-o singură regiune sau instituție îngreunează generalizarea concluziilor. Eșantionul limitat a împiedicat detectarea unor asocieri potențial existente între factorii de mediu și cei genetici, a căror analiză statistică prin diferite modele necesită dimensiuni mai mari ale loturilor.

Investigațiile de tip caz-control privind factorii de risc pre- și postconcepționali (de mediu și comportamentali) pentru MCSN au fost vulnerabile la o serie de limitări metodologice, specifice acestui design. O problemă recunoscută este colectarea retrospectivă a datelor despre expuneri, care poate crea erori de raportare și părtinire de memorie (*recall bias*). De exemplu, mamele copiilor cu defecte congenitale ar putea rememora diferit (adesea cu tendința de a supraraporta sau, dimpotrivă, de a subestima anumite expuneri), comparativ cu mamele din grupul de control. În literatura de specialitate [107,135] este confirmat că, pentru malformațiile ce se formează în primul trimestru, chestionarea retrospectivă este adesea supusă *bias*-ului de memorie. În studiul nostru, acest aspect a afectat probabil acuratețea informațiilor privind dieta periconcepțională, complianța la suplimente cu acid folic, consumul de substanțe etc. Unele variabile de mediu pot fi subiecte sensibile (de ex., fumatul, consumul de alcool, de droguri în sarcină), ceea ce poate induce *bias de dezirabilitate* socială - participantele pot minimiza raportarea acestor expuneri din jenă sau teamă, limitând astfel validitatea datelor colectate.

Altă limitare a studiilor caz-control din teză a fost evaluarea incompletă a tuturor factorilor de mediu relevanți. Deși au fost investigat anumiți factori (precum suplimentarea cu folat, prezența toxinelor majore, statusul socioeconomic), alți factori ce țin de stilul de viață și de mediu nu au fost analizați în detaliu. Teza a menționat explicit neabordarea unor variabile precum regimul alimentar/dieta detaliată, expunerea la substanțe toxice minore, nivelul de activitate fizică sau stresul matern. Imposibilitatea efectuării unor *regresii multivariate extinse*, din cauza raportului

modest între numărul de cazuri și numărul de variabile de interes, a împiedicat realizarea unor analize statistice extinse, cu ajustarea posibililor „*factori de confuzie*”. Unele studii similare au remarcat că, în investigarea MCSN, adesea nu se reușește ajustarea pentru toți factorii de confuzie, deoarece numărul acestora este foarte mare și metodologic este complicat de a face acest lucru. În studiul nostru, numărul limitat de cazuri a impus modele statistice simple; includerea prea multor covariante într-un model statistic ar fi dus la supraajustarea sau instabilitatea estimărilor. Astfel, anumite relații pot fi influențate de factori nemăsurați sau necontrolați, iar interacțiunile gene – mediu nu au putut fi evaluate riguros în acest design restrâns. Pentru reducerea *bias*-ului de memorie și a erorilor de raportare, o soluție este trecerea de la designul retrospectiv la unul prospectiv. Studiile prospective de cohortă (de ex., începând din perioada preconcepțională sau de la debutul sarcinii) permit colectarea în timp real a datelor privind expunerile înainte de apariția rezultatului (MCSN), eliminând problemele de rememorare și asigurând o evaluare mai precisă a factorilor de risc. Un eșantion mai mare ar permite o estimare mai fiabilă a incidenței și a tendințelor temporale, precum și evaluarea interacțiunilor genetice și de mediu cu o putere statistică sporită. De exemplu, anumite asocieri de risc au devenit evidente abia în analizele de mare anvergură: metaanalize care au cumulat date din studii multiple au putut demonstra efecte semnificative ale unor factori (precum hipertermia maternă) asupra riscului de MCSN, efect care nu era neapărat semnificativ în studii individuale mici [107].

Pentru a depăși aceste impedimente, studiile viitoare trebuie să extindă baza de date epidemiologică, în special în contextul Republicii Moldova, unde ar fi recomandată abordarea prin colaborări multicentrice (în particular - cu țările vecine/regionale), astfel încât să se asigure un număr suficient de cazuri pentru analize ample. Astfel, rezultatele obținute, raportate la constrângerile de ordin metodologic și demografic ale studiului, pot servi drept punct de plecare (cadru preliminar) pentru aprofundarea cercetărilor asupra MCSN în Republica Moldova, iar extinderea investigațiilor în studii viitoare, desfășurate la scară mai largă și cu designuri prospective, ar asigura validarea și consolidarea concluziilor formulate.

Studiul nostru a evidențiat, de asemenea, importanța promovării educației pentru sănătate în rândurile populației și a politicilor de sănătate publică în prevenirea MCSN. Implementarea unui program național de fortificare a alimentelor cu acid folic și campaniile de conștientizare publică sunt esențiale pentru a reduce prevalența acestor MCSN. Rezultatele obținute în studiu sugerează că educația și consilierea genetică sunt importante pentru a conștientiza femeile de vârstă fertilă în privința suplimentării cu acid folic și a riscurilor asociate cu deficiențele nutriționale. Studiul accentuează importanța unei abordări integrate și multidisciplinare, în scopul prevenirii și managementului MCSN. Rezultatele sunt în mare parte congruente cu datele din literatura de specialitate, adăugând informații corespunzătoare contextului regional din RM.

Aceste constatări subliniază necesitatea unor intervenții adaptate la nivel local, care să abordeze atât factorii genetici, cât și cei de mediu, precum și să includă consilierea genetică, suplimentarea nutrițională, educația publică și monitorizarea postnatală în scopul de a reduce incidența MCSN și a îmbunătăți calitatea vieții copiilor afectați.

CONCLUZII GENERALE

1. În Republica Moldova, pe parcursul anilor 2018-2023, s-a constatat o tendință de descreștere semnificativă statistic a incidenței malformațiilor congenitale ale sistemului nervos (MCSN), inclusiv a cazurilor de MCSN folat-prevenibile, care ar putea reflecta impactul măsurilor de profilaxie primară și creșterea accesului populației la diagnosticarea prenatală. Evaluarea frecvenței MCSN în populația pediatrică din RM (în perioada 2018-2021) a identificat o frecvență mai mare a *anomaliilor structurale ale creierului* și a *hidrocefaliei*, predominante fiind *anencefalia, encefalocelul, microcefalia*. În regiunea EUROCAT sunt mai frecvente cazurile de microcefalie, comparativ cu RM, iar incidența encefalocelului este relativ similară în RM și în EUROCAT.

2. Analiza factorilor de risc pentru MCSN a evidențiat diferențe semnificative între grupurile studiate, în special pentru factorii din timpul sarcinii (13 asocieri), urmați de cei materni (10 asocieri) și cei paterni (7 asocieri). Pentru factorii din timpul sarcinii, valori semnificative ale raportului de șanse s-au observat pentru citomegalovirus, tabagism și hepatita virală. Dintre factorii materni, s-au constatat asocieri puternice pentru supraponderalitate, bolile genetice și infecții. Printre factorii paterni au predominat tabagismul, consumul de alcool, infecțiile TORCH.

3. Studiul a identificat că cea mai frecventă formă de MCSN a fost hidrocefalia congenitală (75,71%), urmată de chisturile cerebrale (24,29%), craniostenoză (17,14%), spina bifidă/meningomielocelul congenital (11,43% fiecare) și microcefalie (10%), alte patologii (hipogenezia/agenezia corpului calos, atrofia cerebelară, sindromul Arnold-Chiari) atestându-se rar (<10% cazuri). S-au atestat diverse combinații de forme de MCSN, cu identificarea a două clustere de MCSN: 1) agenezia corpului calos/meningomielocelul congenital/craniostenoza; 2) spina bifidă/sindromul Arnold Chiari. În eșantionul investigat au fost identificate diferite asocieri între forma de MCSN și patologiile concomitente (unice/multiple), au fost observate, în special, corelații puternice între *spina bifida* și *paraplegia flască* (*rho* = 0,671), corelații moderate între *atrofia cerebrală* și *strabismul congenital* (*rho* = 0,361), între *sindromul Arnold-Chiari* și *paraplegia flască* (*rho* = 0,377).

4. Analizele statistice efectuate evidențiază că la mamele copiilor cu MCSN, mai pronunțat în formele folat-dependente (FMCSN), se observă o suprareprezentare a alelelor de risc în genele ciclului folatului (*MTHFR677-T*, *MTHFR1298-C*, *MTR2756*-G, *MTRR66*-G), cel mai frecvent în heterozigoți (CT/AC/AG). Genotipurile homozigote „wild-type” (de ex., *MTHFR677-CC*, *MTHFR1298-AA*, *MTR2756*-AA, *MTRR66*-AA) au avut efect protector (RR<1; PAF<0). Din sfera nongenetică, infecțiile TORCH/CMV, viciile materne (tabagism/alcool), expunerile la noxe și vulnerabilitatea socioeconomică au contribuit substanțial la povara bolii, cu RA% la cei expuși frecvent >50% în FMCSN. Suplimentarea cu acid folic a fost protectivă, iar lipsa acesteia s-a

asociat cu RR marcat (≈19). Deși modelele formale de interacțiune (*genă - mediu*/*genă - genă*) nu au fost posibile din cauza eșantioanelor mici pe subtip, convergența direcțională - alelele de risc + expunerile nefavorabile - sugerează efecte cel puțin aditive, posibil sinergice. În ansamblu, datele susțin existența un profil de risc compozit (genetic + epigenetic/ambiental) și indică ținte de prevenție cu impact potențial ridicat: periconcepțional acid folic, controlul infecțiilor, renunțarea la fumat/alcool și intervenții socioeconomice.

RECOMANDĂRI PRACTICE

1. Pentru politicile de sănătate publica, se recomandă menținerea și actualizarea continuă a Registrului Național al Malformațiilor Congenitale, cu standardizare completă conform rețelelor internaționale (EUROCAT, GBD), pentru asigurarea unei supravegheri epidemiologice eficiente și susținerea politicilor naționale de intervenție în domeniul sănătății materno-infantile.
2. În acest context, ar fi utilă efectuarea periodică a analizelor comparative între datele naționale și cele europene, pentru a identifica posibilele abateri de tendință sau neajunsuri în măsurile preventive implementate, ceea ce va permite ajustarea programelor naționale în funcție de nivelul de risc identificat.
3. Pentru practica medicală, este recomandabil să se includă evaluarea sistematică a factorilor de risc pre- și postconcepționali în consultațiile de planificare a familiei, cu accent pe educarea ambilor părinți privind rolul factorilor ambientali, nutriționali și comportamentali în prevenirea MCSN, precum și recomandarea suplimentării cu acid folic, personalizată după profilul de risc.
4. În cercetările viitoare este necesară axarea pe dezvoltarea unor modele clinico-statistice de corelare între diferitele forme de MCSN și comorbiditățile neurologice asociate, în vederea identificării unor tipare fenotipice utile pentru diagnosticul timpuriu, prognostic și personalizarea intervențiilor terapeutice.
5. Odată cu translarea dovezilor din cercetările genetice în practica medicală, ar fi recomandabil să se implementeze gradual testarea genetică pentru polimorfismele genei *MTHFR* și genele conexe în centrele de medicină reproductivă, cu scopul de a identifica femeile cu risc crescut pentru MCSN folat-dependente și de a elabora ghiduri de conduită adaptate profilului genetic individual.

BIBLIOGRAFIE

1. Chugunova L, Piskulina A, Kostiukov K. Neural tube defects: current view on etiology, prenatal prevention, and early diagnosis. A review. Cons Medicum . 2023;25(8):491-6. Valabil la: https://consilium.orscience.ru/2075-1753/article/view/624248
2. Detrait E, George T, Etchevers H, Gilbert J, Vekemans M, Speer M. Human neural tube defects: Developmental biology, epidemiology, and genetics. Neurotoxicol Teratol. 2005;27(3):515-24.
3. Grigori E. Epidemiologia, diagnosticul şi unele aspecte ale etiologiei şi profilaxiei malformaţiilor congenitale în Republica Moldova : autoreferat al tezei de doctor în ştiințe medicale. USMF „Nicolae Testemitanu”; 2003.
4. Barbova N, Egorov V, Opalco I, Uşurelu N. Evidenţe rare în monitoringul malformaţiilor congenitale. În: Conferința Națională „Ziua bolilor rare 2023”. Chişinău: Taicom (Ridgeone Group); 2024. p. 40-1.
5. Egorov V, Barbova N. Comparison of rare congenital anomalies in Moldova with EUROCAT register. În: International Congress of Geneticists and Breeders from the Republic of Moldova. Chișinău; 2021. p. 49.
6. Zaganjor I, Sekkarie A, Tsang B, Williams J, Razzaghi H, Mulinare J, Sniezek J, Cannon M, Rosenthal J. Describing the Prevalence of Neural Tube Defects Worldwide: A Systematic Literature Review. PLoS One. 2016;11(4):e0151586.
7. Prevalence charts and tables. European Platform on Rare Disease Registration. 2024. Valabil la: https://eu-rd-platform.jrc.ec.europa.eu/eurocat/eurocat-data/prevalence_en
8. Garne E, Dolk H, Loane M, Boyd P. EUROCAT website data on prenatal detection rates of congenital anomalies. J Med Screen. 2010;17(2):97-8. Valabil la: https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1258/jms.2010.010050
9. Capros H, Halabudenco E, Sprincean M, Barbova N, Strătilă M, Dobrovolskaia-Catrinici A, Secrieru V, Nour V. Factori de risc la gravidele cu risc de malformaţii embrio-fetale. Analele Ştiinţifice ale USMF „N Testemiţanu”. 2013;5(14):43-7.
10. Sprincean M, Hadjiu S, **Tihai O**, Barbova N. Prenatal diagnosis of cerebral congenital malformations folate dependent in pregnancies with genetic risk. Middle East Int Conf Contemp Sci Stud. 2021;2(397):394-401.
11. Finnell R, Shaw G, Lammer E, Rosenquist T. Gene-nutrient interactions: importance of folic acid and vitamin B12 during early embryogenesis. Food Nutr Bull. iunie 2008;29(2 Suppl):S86-98; discussion S99-100.
12. Atta C, Fiest K, Frolkis A et al. Global Birth Prevalence of Spina Bifida by Folic Acid Fortification Status: A Systematic Review and Meta-Analysis. Am J Public Health. ianuarie 2016;106(1):e24-34.
13. Stallings E, Isenburg J, Rutkowski R et al. National population-based estimates for major birth defects, 2016–2020. Vol. 116, Birth Defects Research. John Wiley and Sons Inc; 2024. Valabil la: https://www.cdc.gov/spina-bifida/data/index.html
14. Kancherla V, Ma C, Grant G, Lee H, Hintz S, Carmichael S. Factors Associated with Early Neonatal and First-Year Mortality in Infants with Myelomeningocele in California from 2006 to 2011. Am J Perinatol. 2020;38(12):1263-70. Valabil la: http://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0040-1712165
15. Hotărâre Guvernului Nr. 171 din 19.03.2012 cu privire la aprobarea unor măsuri de reducere a afecţiunilor determinate de deficienţa de fier şi acid folic pînă în anul 2017. Monitorul Oficial al Republicii Moldova 2009. Valabil la: https://www.legis.md/cautare/getResults?doc_id=86897&lang=ro
16. Sprincean M, Sprincean S, Hadjiu S et al. Bioethical principles in prenatal diagnostics and

genetic counseling. NANO - 2024 “Quo Vadis – Ethics Sci Res. 2025;15(2):44-7.

17. Yang X, Fan G, Wang Z, Li S, Qin H, Wang Y, Ma X, Ji W, Wang Y. Study on the relationship between genetic polymorphism of reductive folic acid carrier and the risk of neural tube defects. Childs Nerv Syst. 2023;39(7):1711-8.
18. Guo Q nan, Liao S xiu, Liu H yan, Gao Y, Lou G yu. Effects of Gender Differences in MTHFR 677C > T and Homocysteine Level on the Occurrence of Adverse Pregnancy Outcomes. Int J Genomics. 2025;2025(1):9133866. Valabil la: https://doi.org/10.1155/ijog/9133866
19. Zarembska E, Ślusarczyk K, Wrzosek M. The Implication of a Polymorphism in the Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene in Homocysteine Metabolism and Related Civilisation Diseases. Int J Mol Sci. 2024;25(1). Valabil la: /pmc/articles/PMC10779094/
20. Thomas P, Fenech M. Methylenetetrahydrofolate Reductase, Common Polymorphisms, and Relation to Disease. În: Vitamins and Hormones. Academic Press; 2008. p. 375-92. Valabil la: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0083672908004135
21. Kirke P, Murray S, Mills J, Conley M et al. Impact of the MTHFR C677T polymorphism on risk of neural tube defects: case-control study. BMJ Br Med J. 2004;328(7455):1535. Valabil la: /pmc/articles/PMC437144/
22. **Tihai O**, Hadjiu S, Sprincean M, Barbova N, Egorov V, Revenco N. Impactul metabolismului acidului folic asupra dezvoltării malformațiilor congenitale cerebrale la copii: efectul genotipului matern. Rev Neurol si Psihiatr a Copilului si Adolesc din Rom. 2022;28(3):27-33.
23. Copăceanu I, Hadjiu S, Revenco N, Călcîi C, Iliciuc I, Teut A. Profilul clinico-paraclinic al anomaliilor de dezvoltare ale sistemului nervos central la copii. Supl la Rev Neurol și Psihiatr a Copilului și Adolesc din România. 2016;22(3):36-7.
24. Barbova N, Egorov V, Opalco I. Principiile de monitorizare ale malformaţiilor congenitale ale sistemului nervos central în Republica Moldova în conformitate cu recomandările EUROCAT. Rev Neurol si Psihiatr a Copilului si Adolesc din Rom. 2023;29(3):79.
25. Sacară V, Scvorţova E, Duca M, Uşurelu N, Moşin V. Frecvenţa variantelor alelei C677T în gena b5,10-metilentetrahidrofolatreductaza ca factor genetic predispozant în apariţia defectelor tubului neural şi a malformaţiilor congenitale dependente de acid folic în populaţia Republicii Moldova. Bul Perinatol. 2009;43(3):215-9.
26. Taylor T, Farkouh R, Graham J, Colligs A, Lindemann M, Lynen R, Candrilli S. Potential reduction in neural tube defects associated with use of Metafolin-fortified oral contraceptives in the United States. Am J Obstet Gynecol. 2011;205(5):460.e1-460.e8. Valabil la: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002937811007769
27. Matok I, Gorodischer R, Koren G, Landau D, Wiznitzer A, Levy A. Exposure to folic acid antagonists during the first trimester of pregnancy and the risk of major malformations. Br J Clin Pharmacol . 2009;68(6):956. Valabil la: /pmc/articles/PMC2810808/
28. Copp A, Stanier P, Greene N. Neural tube defects: recent advances, unsolved questions, and controversies. Lancet Neurol. 2013;12(8):799-810.
29. Cowchock S, Ainbender E, Prescott G, Crandall B, Lau L, Heller R, Muir W, Kloza E, Feigelson M, Mennuti M, Cederquist L. The recurrence risk for neural tube defects in the United States: a collaborative study. Am J Med Genet. 1980;5(3):309-14.
30. Buta G, Russu-Deleu R, Gîtu L. Răspândirea malformaţiilor congenitale în populaţia pediatrică din Republica Moldova. Sănătate Publică, Econ şi Manag în Med. 2018;1-2(75-76):102-9.
31. Sprincean M, Hadjiu S, Eţco L, Calcîi C, Bejan N, Egorov V, Lupușor N, **Tihai O**, Revenco N. Accidentul vascular cerebral la copii în unele patologii genetice. Rev Neurol şi Psihiatr a Copilului şi Adolesc. 2018;24(2):21-9.

32. Hadjiu S, Galbur V, **Tihai O**, Revenco N. Bolile genetice și epilepsia (reviu de literatură). Actualități în pediatrie și impactul imunizării asupra morbidității și mortalității copiilor în Republica Moldova; 22-23 septembrie. 2023. p. 31-6.
33. Cai C, Fang Y, Shu J, Zhao L, Zhang R, Cao L, Wang Y, Zhi X, Cui H, Shi O, Liu W. Association of neural tube defects with maternal alterations and genetic polymorphisms in one-carbon metabolic pathway. Ital J Pediatr. 2019;45(1):37. Valabil la: https://doi.org/10.1186/s13052-019-0630-1
34. Saxena A, Singh V, Agarwal M, Tiwari M, Kumar V, K R, C A, Patra P, Kumar S. Penetrance of MTHFR, MTRR and SHMT Gene Polymorphism Modulate Folate Metabolism in Maternal Blood and Increases "Risk Factor" in Neural Tube Defects in Eastern India. Hum Genet Embryol. 2018;08(02).
35. Corsello G, Giuffrè M. Congenital malformations. J Matern Fetal Neonatal Med. 2012;25 Suppl 1:25-9.
36. Archer J, Yeager S, Kenny M, Soll R, Horbar J. Distribution of and mortality from serious congenital heart disease in very low birth weight infants. Pediatrics. 2011;127(2):293-9.
37. Creasy M, Alberman E. Congenital malformations of the central nervous system in spontaneous abortions. J Med Genet. 1976;13(1):9-16.
38. Dolk H, Loane M, Garne E. The prevalence of congenital anomalies in Europe. Adv Exp Med Biol . 2010;686:349-64. Valabil la: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20824455/
39. Madrid L, Vyas K, Kancherla V, Leulseged H, Suchdev P, Bassat Q, Sow S, El Arifeen S, et al. Neural tube defects as a cause of death among stillbirths, infants, and children younger than 5 years in sub-Saharan Africa and southeast Asia: an analysis of the CHAMPS network. Lancet Glob Heal. 2023;11(7):e1041-52.
40. Statistical Monitoring Reports. European Platform on Rare Disease Registration . Valabil la: https://eu-rd-platform.jrc.ec.europa.eu/eurocat/eurocat-data/statistical-monitoring_en
41. Hadzagić-Catibusić F, Maksić H, Uzicanin S, Heljić S, Zubcević S, Merhemić Z, Cengić A, Kulenović E. Congenital malformations of the central nervous system: clinical approach. Bosn J basic Med Sci. 2008;8(4):356-60.
42. Vinutha S, Narayanappa D, Manjunath G, Sujatha M, Sapna Patel M, Bhat D. The Spectrum of Congenital Central Nervous System Anomalies Among Stillborn: An Autopsy Based Study. Ann Neurosci. 2020;27(3-4):224-31. Valabil la: https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0972753121990169
43. Barañano K, Burd I. CNS Malformations in the Newborn. Matern Heal Neonatol Perinatol . 2022;8(1):1. Valabil la: https://doi.org/10.1186/s40748-021-00136-4
44. Boyle B, Addor M, Arriola L, Barisic I, Bianchi F, Csáky-Szunyogh M, de Walle H, Dias C, Draper E, Gatt M, Garne E et al. Estimating Global Burden of Disease due to congenital anomaly: an analysis of European data. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. 2018;103(1):F22-8.
45. Global Burden of Disease (GBD). Institute for Health Metrics and Evaluation . University of Washington; Valabil la: https://vizhub.healthdata.org/gbd-compare/
46. Kinsner-Ovaskainen A, Lanzoni M, Garne E, Loane M, Morris J, Neville A, Nicholl C, Rankin J, Rissmann A, Tucker D, Martin S. A sustainable solution for the activities of the European network for surveillance of congenital anomalies: EUROCAT as part of the EU Platform on Rare Diseases Registration. Eur J Med Genet. 2018;61(9):513-7.
47. EUROCAT Network overview. European Platform on Rare Disease Registration . European Platform on Rare Disease Registration; Valabil la: https://eu-rd-platform.jrc.ec.europa.eu/eurocat/eurocat-network/eurocat-network-overview_en
48. Egorov V, Barbova N, Halabudenco E. Monitoring of congenital anomalies in the Republic of Moldova, 2016-2018. Int Congr Genet Breeders from Repub Mold. 2021;48.

49. ICD-10 Version:2019 . Valabil la: https://icd.who.int/browse10/2019/en#
50. Lee K, Choi Y, Cho J, Lee H, Lee H, Park S, Park J, Hong Y. Environmental and Genetic Risk Factors of Congenital Anomalies: an Umbrella Review of Systematic Reviews and Meta-Analyses. J Korean Med Sci. 2021;36(28):e183.
51. Van Der Knaap M, Valk J. CNS. Classification of congenital abnormalities of the CNS. AJNR . 2023; Valabil la: http://www.ajnr.org/content/9/2/315
52. Barbova N, Egorov V, Halabudenco E, Uşurelu N, Opalco I. Results of the monitoring of congenital anomalies in children in the Republic of Moldova for the period 2013–2019. În: Conferința Națională „Ziua bolilor rare 2023”. Chişinău: Taicom (Ridgeone Group); 2023. p. 6-11.
53. Barbova N, Egorov V, Halabudenco E, Sprincean M, Strătilă M. Monitoring of congenital anomalies in the population of Republic of Moldova. În: International Congress of Geneticists and Breeders from the Republic of Moldova. Chişinău; 2015. p. 35.
54. Egorov V, Barbova N, Sakara V, Uşurelu N. Classification by type of congenital anomalies in the Republic of Moldova, according to the national monitoring for 2014 and 2015, and comparison with the data of the Institute of Mother and Child and information about alcohol consumption and use and folic. În: International Congress of Geneticists and Breeders from the Republic of Moldova. 2015. p. 52.
55. Bergman J, Perraud A, Barišić I et al. Updated EUROCAT guidelines for classification of cases with congenital anomalies. Birth Defects Res. 2024;116(2):1-20.
56. Zugazaga Cortazar A, Martín Martinez C, Duran Feliubadalo C, Bella Cueto M, Serra L. Magnetic resonance imaging in the prenatal diagnosis of neural tube defects. Insights Imaging . 2013;4(2):225-37. Valabil la: https://doi.org/10.1007/s13244-013-0223-2
57. Sharma S, Ojha B, Chandra A, Singh S, Srivastava C. Parietal and occipital encephalocele in same child: A rarest variety of double encephalocele. Eur J Paediatr Neurol. 2016;20(3):493-6.
58. Ravi K, Divasha, Hassan S, Pasi R, Mittra S, Kumar R. Neural tube defects: Different types and brief review of neurulation process and its clinical implication. J Fam Med Prim care . 2021;10(12):4383-90. Valabil la: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35280642
59. Markovic I, Bosnjakovic P, Milenkovic Z. Occipital Encephalocele: Cause, Incidence, Neuroimaging and Surgical Management. Curr Pediatr Rev . 2020;16(3):200-5. Valabil la: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31656152/
60. Padmanabhan R. Etiology, pathogenesis and prevention of neural tube defects. Congenit Anom (Kyoto) . 2006;46(2):55-67. Valabil la: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16732763/
61. Greene NDE, Copp AJ. Neural tube defects. Annu Rev Neurosci . 2014;37:221-42. Valabil la: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25032496/
62. Sarma A, Pruthi S. Congenital Brain Malformations- Update on Newer Classification and Genetic Basis. Semin Roentgenol. 2023;58(1):6-27. Valabil la: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0037198X22000700
63. De Marco P, Merello E, Mascelli S, Capra V. Current perspectives on the genetic causes of neural tube defects. Neurogenetics. 2006;7(4):201-21.
64. Linden I, Afman L, Heil S, Blom H. Genetic variation in genes of folate metabolism and neural-tube defect risk. Proc Nutr Soc. 2006;65(2):204-15. Valabil la: https://www.cambridge.org/core/journals/proceedings-of-the-nutrition-society/article/genetic-variation-in-genes-of-folate-metabolism-and-neuraltube-defect-risk/EC4BD431DAA14DAE74B6207399551FD1
65. Kumari R, Kumar S, et al MTHFR C677T and MTR A2756G Gene Polymorphism in Neural Tube Defect Patients and Its Association with Red Blood Cell Folate Level in Eastern Indian Population. J Indian Assoc Pediatr Surg. 2022;27(6):699-706.

66. National Institutes of Health (NIH) Office of Dietary Supplements (ODS). Strengthening Knowledge and Understanding of Dietary Supplements. 2022. Valabil la: https://ods.od.nih.gov/factsheets/Folate-HealthProfessional/
67. Adri I, Touloun O, Boussaa S, Adri I et al. Prevalence and Risk Factors for Congenital Malformations in Morocco. Middle East J Rehabil Heal Stud 2024 113 . 2024;11(3). Valabil la: https://brieflands.com/articles/mejrh-141684
68. Crider K, Qi Y, Yeung L, Mai C, Head Zauche L, Wang A, Daniels K, Williams J. Folic Acid and the Prevention of Birth Defects: 30 Years of Opportunity and Controversies. Annu Rev Nutr. 2022;42:423-52.
69. MTHFR Gene Variant and Folic Acid Facts. Centers for Disease Control and Prevention . 2025. Valabil la: https://www.cdc.gov/ncbddd/folicacid/mthfr-gene-and-folic-acid.html
70. Akar N, Akar E, Ozel D, Deda G, Sipahi T. Common mutations at the homocysteine metabolism pathway and pediatric stroke. Thromb Res. 2001;102(2):115-20.
71. Sakara V, Egorov V, Groppa S, Strătilă M, Moshin V. Medico-genetic assistance in the Republic of Moldova. Bul Acad Ştiinţe a Mold Ştiinţele vieţii. 2010;84-8.
72. Blanco-Muñoz M, Lacasaña M, Borja-Aburto V. Maternal miscarriage history and risk of anencephaly. Paediatr Perinat Epidemiol. 2006;20(3):210-8. Valabil la: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-3016.2006.00718.x
73. Copp A, Greene N. Genetics and development of neural tube defects. J Pathol. 2010;220(2):217-30.
74. Hadjiu S. Sindroame genetice asociate cu maladii neurologice la copii. În: Congresul Internațional al Societății de Pediatrie din Republica Moldova. Chișinău; 2024. p. 44.
75. Sayed A, Bourne D, Pattinson R, Nixon J, Henderson B. Decline in the prevalence of neural tube defects following folic acid fortification and its cost-benefit in South Africa. Birth Defects Res Part A - Clin Mol Teratol. 2008;82(4):211-6.
76. Mitchell L. Epidemiology of neural tube defects. Am J Med Genet C Semin Med Genet . 2005;135C(1):88-94. Valabil la: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15800877/
77. Viswanathan M, Treiman K, Kish-Doto J et al. Folic Acid Supplementation for the Prevention of Neural Tube Defects: An Updated Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force. JAMA. 2017;317(2):190-203. Valabil la: https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2596299
78. Molloy A, Kirke P, Mills J. Pregnancy: Prevention of Neural Tube Defects . Vol. 4-4, Encyclopedia of Human Nutrition. Elsevier Ltd.; 2012. 81-89 p. Valabil la: http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-375083-9.00234-8
79. Missori P, Paolini S, Currà A. From congenital to idiopathic adult hydrocephalus: a historical research. Brain. 2010;133(6):1836-49. Valabil la: https://doi.org/10.1093/brain/awq014
80. Goodrich J. A Historical Review of the Surgical Treatment of Spina Bifida BT - The Spina Bifida: Management and Outcome. În: Memet Özek M, Cinalli G, Maixner WJ, editori. Milano: Springer Milan; 2008. p. 3-17. Valabil la: https://doi.org/10.1007/978-88-470-0651-5_1
81. Erhan D, Hadjiu S. Clinical and imaging manifestations of craniocerebral malformations in children. Rev Neurol si Psihiatr a Copilului si Adolesc din Rom. 2023;108-9.
82. Lechpammer M, Bigio M, Folkerth R. Perinatal Neuropathology. Perinat Neuropathol . 2021; Valabil la: https://www.cambridge.org/core/books/perinatal-neuropathology/2612C2877620B219AF2622656DE67C7E
83. Cuckle H, Maymon R. Development of prenatal screening-A historical overview. Semin Perinatol. 2016;40(1):12-22.

84. Kim G, Seong J, Oh J. Prenatal screening for neural tube defects: from maternal serum alpha-fetoprotein to ultrasonography. Obstet Gynecol Sci. 2023;66(1):1-10. Valabil la: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/36575050
85. Chaudhari B, Ho M. Congenital Brain Malformations: An Integrated Diagnostic Approach. Semin Pediatr Neurol. 2022;42:100973. Valabil la: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1071909122000213
86. Morris J, Wellesley D, Barisic I et al. Epidemiology of congenital cerebral anomalies in Europe: a multicentre, population-based EUROCAT study. Arch Dis Child . 2019;104(12):1181-7. Valabil la: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31243007/
87. Morris J, Springett A, Greenlees et al. Trends in congenital anomalies in Europe from 1980 to 2012. PLoS One. 2018;13(4).
88. Scurtu D, Sprincean M, Racoviță S, **Tihai O**, Hadjiu S, Revenco N. Diagnosticul prenatal al anomaliilor de dezvoltare la fetuși. În: Cercetarea în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță. Chișinău; 2023. p. 565.
89. Sprincean M, Hadjiu S, Halabudenco E et al. Role of medico-genetic counseling and prenatal screening in diagnosis of renal urinary pathology in fetus. Bul Perinatol. 2020;2(87):32-7.
90. Kim C, Yeom K, Iv M. Congenital Brain Malformations in the Neonatal and Early Infancy Period. Semin Ultrasound, CT MRI. 2015;36(2):97-119. Valabil la: http://dx.doi.org/10.1053/j.sult.2015.01.003
91. Aubry M, Aubry J, Dommergues M. Sonographic prenatal diagnosis of central nervous system abnormalities. Child's Nerv Syst. 2003;19(7-8):391-402. Valabil la: https://link.springer.com/article/10.1007/s00381-003-0768-3
92. Shah C, Lee R, Jeph S. In-utero Diagnosis of Double Encephalocele-Imaging Features and Review of Literature. J Radiol Case Rep. 2021;15(12):1-9.
93. Zemet R, Krispin E, Johnson R et al. Implication of chromosomal microarray analysis prior to in-utero repair of fetuses with open neural tube defects. Ultrasound Obstet Gynecol. 7 iunie 2023;
94. **Tihai O**, Sprincean M, Barbova N, Egorov V, Revenco N, Hadjiu S. Diagnosticul genetic al malformațiilor congenitale cerebrale folat-dependente la copii. Manag Interdiscip al copilului. 2022;156-7.
95. The Neuro-MIG Project . Valabil la: https://www.neuro-mig.org/neuro-mig-project
96. Erhan D, Hadjiu S. Malformațiile cranio-cerebrale la copii: manifestări clinico-imagistice. În: Pediatria – specialitate multidisciplinară : Congresul Internațional al Societății de Pediatrie din Republica Moldova. 2024. p. 34.
97. Vézina G. Congenital malformations of the brain: prenatal and postnatal imaging. Semin Roentgenol. 2004;39(2):165-81.
98. Avagliano L, Massa V, George T, Qureshy S, Bulfamante G, Finnell R. Overview on neural tube defects: From development to physical characteristics. Birth Defects Res . 2019;111(19):1455-67. Valabil la: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bdr2.1380
99. **Tihai O**, Hadjiu S, Barbova N, Egorov V, Revenco N, Sprincean M. Postnatal diagnosis of congenital brain malformation in children. Cercet în Biomed și sănătate calitate, Excel și performanță. 2021;362.
100. Robinson A. Inferior vermian hypoplasia-preconception, misconception. Ultrasound Obstet Gynecol. 2014;43(2):123-36.
101. Almadhoun M, Hattab A, Alazzeh N, Aladwan S, Ta'amneh O. Diagnosis and Treatment of Dandy-Walker Syndrome With Two Types of Ventriculoperitoneal (VP) Shunts: A Case Report. Cureus. 2023;15(10).

102. Alexiou G, Prodromou N. Dandy-Walker Malformation. Handb Cerebellum Cerebellar Disord Second Ed Vol 3. 2023;2151-7. Valabil la: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538197/
103. Al-Turkistani H. Dandy–Walker syndrome. J Taibah Univ Med Sci. 2014;9(3):209-12.
104. Fernández Garrido M, Lévano Vásquez J, Santos Herrero M, Pascual Pérez J, Martínez Báez A. Arnold-Chiari Malformation. Pediatr Aten Primaria . 2023;26(101):59-63. Valabil la: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK431076/
105. Killory B, Preul M, Spetzler R. Chiari Malformations. În: Encyclopedia of the Neurological Sciences. 2014. p. 770-2.
106. Rodríguez-Blanque R, Almazán-Soto C, Piqueras-Sola B et al. Chiari Syndrome: Advances in Epidemiology and Pathogenesis: A Systematic Review. J Clin Med. 2023;12(20).
107. Isaković J, Šimunić I, Jagečić D, Hribljan V, Mitrečić D. Overview of Neural Tube Defects: Gene–Environment Interactions, Preventative Approaches and Future Perspectives. Biomedicines. 2022;10(5):965. Valabil la: https://www.mdpi.com/2227-9059/10/5/965/htm
108. Facts about Anencephaly|CDC Valabil la: https://www.cdc.gov/ncbddd/birthdefects/anencephaly.html
109. Berg B. Anencephaly. Encycl Neurol Sci. 2014;1:172-3.
110. Li H, Huang Y, Li J, Liu S, Chen Y, Li L, Jiang C, Chen Z, Li N. Maternal PM(10) Exposure Increases Risk for Spina Bifida: A Population-Based Case-Control Study. Front public Heal. 2021;9:695192.
111. Hassan A, Du Y, Lee S, Wang A, Farmer D. Spina Bifida: A Review of the Genetics, Pathophysiology and Emerging Cellular Therapies. J Dev Biol . 2022;10(2):22. Valabil la: https://www.mdpi.com/2221-3759/10/2/22/htm
112. Tindula G, Mukherjee S, Ekramullah S et al. Parental metal exposures as potential risk factors for spina bifida in Bangladesh. Environ Int. 2021;157:106800.
113. Benjamin R, Ethen M, Canfield M, Hua F, Mitchell L. Association of interpregnancy change in body mass index and spina bifida. Birth defects Res. 2019;111(18):1389-98.
114. Au K, Ashley-Koch A, Northrup H. Epidemiologic and genetic aspects of spina bifida and other neural tube defects. Dev Disabil Res Rev. 2010;16(1):6-15. Valabil la: https://doi.org/10.1002/ddrr.93
115. Blatter B, Roeleveld N. Spina bifida and parental occupation in a Swedish register-based study. Scand J Work Environ Health. 1996;22(6):433-7.
116. Brea C, Munakomi S. Spina Bifida. StatPearls. 2023; Valabil la: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559265/
117. Richterová R, Kolarovszki B, Opšenák R et al. Management of Pediatric Patients with Spina Bifida. Spina Bifida Craniosynostosis - New Perspect Clin Appl . 2021; Valabil la: https://www.intechopen.com/chapters/77003
118. Sahni M, Alsaleem M, Ohri A. Meningomyelocele. În: StatPearls . Treasure Island (FL); 2024. Valabil la: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27189655
119. Chapman T. Congenital brain malformations. Pediatr Imaging Essentials. 2015;573-630. Valabil la: https://www.taylorfrancis.com/chapters/edit/10.1201/b19609-27/congenital-brain-malformations-elzbieta-jurkiewicz-katarzyna-nowak
120. Dawidziuk M, Gambin T, Bukowska-Olech E et al. Exome Sequencing Reveals Novel Variants and Expands the Genetic Landscape for Congenital Microcephaly. Genes (Basel). 2021;12(12).
121. Microcephaly. World Health Organization. 2018. Valabil la: https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/microcephaly

122. Kerr S, Van Bennekom C, Mitchell A. Risk factors for congenital microcephaly in the pre-Zika era. Birth Defects Res. 2019;111(2):96-118. Valabil la: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/bdr2.1443
123. Ferreira A, Santana D, Figueiredo E et al. Sociodemographic and Clinical Factors for Microcephaly Secondary to Teratogenic Infections in Brazil: An Ecological Study. Viruses. 2023;15(8).
124. Landingham Van M, Nguyen T, Roberts A, Parent A, Zhang J. Risk factors of congenital hydrocephalus: a 10 year retrospective study. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2009;80(2):213-7. Valabil la: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18653551
125. Isaacs A, Limbrick D. Cerebrospinal Fluid Biomarkers of Hydrocephalus. În: Limbrick Jr. DD, Leonard JR, editori. Cerebrospinal Fluid Disorders. Cham: Springer International Publishing; 2019. p. 47-70. Valabil la: https://doi.org/10.1007/978-3-319-97928-1_3
126. Jacquemin V, Versbraegen N, Duerinckx S et al. Congenital hydrocephalus: new Mendelian mutations and evidence for oligogenic inheritance. Hum Genomics. 2023;17(1):16. Valabil la: http://europepmc.org/abstract/MED/36859317
127. Kitova T, Kitov B, Uchikova E, Ahmad N. Maternal age-a risk factor for congenital hydrocephalus. Clin Exp Obstet Gynecol. 2020;47(2):257-61.
128. Zhou X, Cai S, Wang H et al. Update from a cohort study for birth defects in Hunan Province, China, 2010-2020. Sci Rep. 2023;13(1):20257.
129. Jeng S, Gupta N, Wrensch M, Zhao S, Wu YW. Prevalence of Congenital Hydrocephalus in California, 1991-2000. Pediatr Neurol. 2011;45(2):67-71. Valabil la: https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2011.03.009
130. Kielaite D, Paliulyte V. Parvovirus (B19) Infection during Pregnancy: Possible Effect on the Course of Pregnancy and Rare Fetal Outcomes. A Case Report and Literature Review. Medicina (B Aires). 2022;58(5):664. Valabil la: https://www.mdpi.com/1648-9144/58/5/664
131. Kalyvas A, Kalamatianos T, Pantazi M et al. Maternal environmental risk factors for congenital hydrocephalus: a systematic review. Neurosurg Focus. 2016;41(5):E3.
132. Santoro C. Genetics of Human Hydrocephalus. Pediatric Hydrocephalus. Cham: Springer International Publishing; 2019. p. 97-138. Valabil la: https://doi.org/10.1007/978-3-319-27250-4_1
133. Abebe M, Seyoum G, Emamu B, Teshome D. Congenital Hydrocephalus and Associated Risk Factors: An Institution-Based Case-Control Study, Dessie Town, North East Ethiopia. Pediatr Heal Med Ther. 2022;13:175-82.
134. Verhagen J, Schrander-Stumpel C, Krapels I et al. Congenital hydrocephalus in clinical practice: A genetic diagnostic approach. Eur J Med Genet. 2011;54(6):e542-7. Valabil la: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S176972121100084X
135. Ali T, Elwy R, Abdelrazik B, Soliman M et al. Risk factors of congenital hydrocephalus: a case-control study in a lower-middle-income country (Egypt). J Neurosurg Pediatr. 2023;31(5):1-9. Valabil la: https://thejns.org/view/journals/j-neurosurg-pediatr/aop/article-10.3171-2022.12.PEDS22321/article-10.3171-2022.12.PEDS22321.xml
136. Munch T, Rasmussen M, Wohlfahrt J, Juhler M, Melbye M. Risk factors for congenital hydrocephalus: a nationwide, register-based, cohort study. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2014;85(11):1253-9.
137. Munch T, Rostgaard K, Rasmussen M et al. Familial aggregation of congenital hydrocephalus in a nationwide cohort. Brain. 2012;135(8):2409-15. Valabil la: https://doi.org/10.1093/brain/aws158
138. Singh R, Prasad R, Singh R et al. Evaluation of Pediatric Hydrocephalus: Clinical, Surgical, and Outcome Perspective in a Tertiary Center. Asian J Neurosurg. 2021;16(4):706-13.

139. Hofman J, Hutny M, Sztuba K, Paprocka J. Corpus Callosum Agenesis: An Insight into the Etiology and Spectrum of Symptoms. Brain Sci. 2020;10(9).
140. D'Ambrosio V, Boccherini C, Manganaro L et al. Hypoplasia of the Corpus Callosum: A Single Center Experience and a Concise Literature Review. Fetal Pediatr Pathol. 2021;40(6):626-37.
141. Barik M, Bajpai M, Das R, Panda S. Study of environmental and genetic factors in children with craniosynostosis: A case-control study. J Pediatr Neurosci. 2013;8(2):89-92.
142. Alderman B, Bradley C, Greene C, Fernbach S, Barón A. Increased risk of craniosynostosis with maternal cigarette smoking during pregnancy. Teratology. 1994;50(1):13-8.
143. Ardalan M, Rafati A, Nejat F et al. Risk Factors Associated with Craniosynostosis: A Case Control Study. Pediatr Neurosurg. 2013;48(3):152-6. Valabil la: https://doi.org/10.1159/000346261
144. Sakamoto M, Iwama K, Sasaki M et al. Genetic and clinical landscape of childhood cerebellar hypoplasia and atrophy. Genet Med. 2022;24(12):2453-63. Valabil la: https://doi.org/10.1016/j.gim.2022.08.007
145. Khemani P. Overview of adult onset cerebellar ataxia. Pract Neurol. 2013;38-40.
146. Pomeranz S, Constantini S, Lubetzki-Korn I, Amir N. Familial intracranial arachnoid cysts. Child's Nerv Syst. 1991;7(2):100-2. Valabil la: https://link.springer.com/article/10.1007/BF00247865
147. Eggink A, Steegers-Theunissen R. Neural Tube Anomalies: An Update on the Pathophysiology and Prevention. Fetal Ther Sci Basis Crit Apprais Clin Benefits. 2020;449-55. Valabil la: https://www.cambridge.org/core/books/fetal-therapy/neural-tube-anomalies-an-update-on-the-pathophysiology-and-prevention/C49A9F4430F21D296E5B29AFB0A4E968
148. Kancherla V, Wagh K, Priyadarshini P, Pachón H, Oakley G. A global update on the status of prevention of folic acid-preventable spina bifida and anencephaly in year 2020: 30-Year anniversary of gaining knowledge about folic acid's prevention potential for neural tube defects. Birth Defects Res. 2022;114(20):1392-403. Valabil la: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bdr2.2115
149. Heseker H, Mason J, Selhub J, Rosenberg I, Jacques P. Not all cases of neural-tube defect can be prevented by increasing the intake of folic acid. Br J Nutr. 2009;102(2):173-80.
150. Jin J. Folic Acid to Prevent Neural Tube Defects. JAMA . 2023;330(5):480. Valabil la: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37526717/
151. De Wals P, Tairou F, Van Allen M et al. Reduction in Neural-Tube Defects after Folic Acid Fortification in Canada. N Engl J Med. 2007;357(2):135-42.
152. Liu J, Li Z, Ye R, Ren A, Liu J. Folic acid supplementation and risk for congenital hydrocephalus in China. Public Health Nutr. 2021;24(13):4238-44.
153. Wilson R, O'Connor D. Guideline No. 427: Folic Acid and Multivitamin Supplementation for Prevention of Folic Acid–Sensitive Congenital Anomalies. J Obstet Gynaecol Canada. 2022;44(6):707-719.e1.
154. Wong E, Rose C, Flores A, Yeung L. Trends in Multivitamin Use among Women of Reproductive Age: United States, 2006-2016. J Women's Heal . 2024;28(1):37-45. Valabil la: https://www.cdc.gov/folic-acid/about/intake-and-sources.html
155. Folic Acid: Sources and Recommended Intake. 2025. Valabil la: https://www.cdc.gov/folic-acid/about/intake-and-sources.html
156. World Health Organization. Guideline: Optimal serum and red blood cell folate concentrations in women of reproductive age for prevention of neural tube defects. Geneva: World Health Organization; 2015. 1-17 p.

157. Chapman T. Congenital disorders. Radiologykey. 2023. Valabil la: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/birth-defects
158. Barry M, Nicholson W, Silverstein M et al. Folic Acid Supplementation to Prevent Neural Tube Defects: US Preventive Services Task Force Reaffirmation Recommendation Statement. Jama. 2023;330(5):454-9.
159. Bibbins-Domingo K, Grossman D, Curry S et al. Folic Acid Supplementation for the Prevention of Neural Tube Defects: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. JAMA .2017;317(2):183-9. Valabil la: https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2596300
160. Oegema R, Stefan Barakat T, Wilke M et al. International consensus recommendations on the diagnostic work-up for malformations of cortical development. Nat Rev Neurol. 2020;16(11):618-35. Valabil la: https://doi.org/10.1038/
161. Honein M, Paulozzi L, Mathews T, Erickson J, Wong L. Impact of folic acid fortification of the US food supply on the occurrence of neural tube defects. JAMA. 2001;285(23):2981-6.
162. Wang H, De Steur H, Chen G, Zhang X et al. Effectiveness of Folic Acid Fortified Flour for Prevention of Neural Tube Defects in a High Risk Region. Nutrients . 2016;8(3). Valabil la: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27005659/
163. Field M, Stover P. Safety of folic acid. Ann N Y Acad Sci . 2018;1414(1):59-71. Valabil la: https://nyaspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/nyas.13499
164. Kerr S, Parker S, Mitchell A et al. Folic acid antagonist use before and during pregnancy and risk for selected birth defects. Birth defects Res. 2020;112(18):1526-40.
165. Van Gool J, Hirche H, Lax H, De Schaepdrijver L. Folic acid and primary prevention of neural tube defects: A review. Reprod Toxicol. 2018;80:73-84.
166. Obreja G, Dondiuc I, Carauș A, Curteanu T. Ghid privind nutriția în perioada preconcepțională, sarcină și lactație. 2018. 59 p.
167. Sagaidac I, Caliga G, Cernețchi O, Medicină U De, Testemițanu N. Utilizarea acidului folic și a preparatelor de fier pe parcursul perioadei de gestație. Bul Perinatol. 2019;4(85):3-9.
168. Morrison J, Gauderman J. QUANTO. Version 1.2.4. California: University of Southen California; 2009. Valabil la: https://quanto.software.informer.com/download/
169. Sacară V. Particularităţile molecular-genetice ale patologiilor neuromusculare frecvent întâlnite în Republica Moldova :Teza de doctor habilitat în ştiinţe biologice. Universitatea de Stat „Dimitrie Cantemir”; 2019.
170. Pack A, Oskoui M, Roberson W et al. Teratogenesis, Perinatal, and Neurodevelopmental Outcomes After In Utero Exposure to Antiseizure Medication: Practice Guideline From the AAN, AES, and SMFM. Neurology. 2024;102(11):e209279.
171. Dupépé E, Patel D, Rocque B et al. Surveillance survey of family history in children with neural tube defects. J Neurosurg Pediatr. 2017;19(6):690-5.
172. Petch S, McAuliffe F, O’Reilly S et al. Folic acid fortification of flour to prevent neural tube defects in Europe-A position statement by the European Board and college of obstetrics and gynaecology (EBCOG). Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2022;279:109-11.
173. Morris J, Addor M, Ballardini E, Barisic I, Barrachina-Bonet, Braz P, Cavero-Carbonell, Den Hond E, Garne E, Gatt M et al. Prevention of Neural Tube Defects in Europe: A Public Health Failure. Front Pediatr. 2021;9:647038.
174. Tesfay N, Hailu G, Habtetsion M, Woldeyohannes F. Birth prevalence and risk factors of neural tube defects in Ethiopia: a systematic review and meta-analysis. BMJ Open. 2023;13(11):e077685.
175. Kancherla V. Neural tube defects: a review of global prevalence, causes, and primary

prevention. Childs Nerv Syst. 2023;39(7):1703-10.

176. Douglas Wilson R, Audibert F, Brock J et al. Pre-conception Folic Acid and Multivitamin Supplementation for the Primary and Secondary Prevention of Neural Tube Defects and Other Folic Acid-Sensitive Congenital Anomalies. J Obstet Gynaecol Canada. 2015;37(6):534-49.
177. Wald N, Morris J, Blakemore C. Public health failure in the prevention of neural tube defects: Time to abandon the tolerable upper intake level of folate. Public Health Rev. 2018;39.
178. Gurugubelli K, Ballambattu V. Perspectives on folate with special reference to epigenetics and neural tube defects. Reprod Toxicol. 2024;125:108576.
179. Bestwick J, Huttly W, Morris J, Wald N. Prevention of Neural Tube Defects: A Cross-Sectional Study of the Uptake of Folic Acid Supplementation in Nearly Half a Million Women. Rosenfeld CS, editor. PLoS One. 2014;9(2):e89354. Valabil la: https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0089354
180. **Tihai O**, Sprincean M, Anton-Păduraru D, Gorduza E et al. The genetics of folate metabolism and maternal risks of birth of a child with congenital brain malformations. Arch Balk Med Union. 2023;58(2):187-94.
181. Hussain S, Asghar I, Sabir M, Chattha M, Tarar S, Mushtaq R. Prevalence and pattern of congenital malformations among neonates in the neonatal unit of a teaching hospital. J Pak Med Assoc. 2014;64(6):629-34.
182. Shurtleff D. Epidemiology of neural tube defects and folic acid. Cerebrospinal Fluid Res . 2004;1(1):5. Valabil la: https://doi.org/10.1186/1743-8454-1-5
183. Pruitt Evans S, Ailes E, Kramer M et al. Neighborhood Deprivation and Neural Tube Defects. Epidemiology. 2023;34(6):774-85.
184. Vrijheid M, Dolk H, Stone D, Abramsky L, Alberman E, Scott JE. Socioeconomic inequalities in risk of congenital anomaly. Arch Dis Child. 2000;82(5):349-52.
185. Tirsit A, Yigaramu M, Zewdneh D et al. Risk Factors for Neural-Tube Defects Detected in Utero: A Prospective Community-Based Study from Addis Ababa. World Neurosurg . 2024;185:e683-90. Valabil la: https://www.sciencedirect.com/science/article/ pii/ S1878875024003218
186. Segbedji K, Tchagbele O, Takassi O et al. Epidémiologie Des Anomalies Morphologiques Néonatales En Milieu Hospitalier À Kara (Nord Togo) De 2014 À 2019. Eur Sci Journal, ESJ . 2022;18(3 SE-ESJ Natural/Life/Medical Sciences). Valabil la: https://eujournal.org/index.php/esj/article/view/15074
187. Khoshnood B, Bouvier-Colle M, Leridon H, Blondel B. Impact de l'âge maternel élevé sur la fertilité, la santé de la mère et la santé de l'enfant. J Gynécologie Obs Biol la Reprod . 2008;1263(8):729 YP - 830. Valabil la: http://www.sciencedirect.com/science/ article/pii/S0368-2315(08)00272-X
188. Zolfizadeh F, Ghorbani M, Soltani M et al. Factors Associated with Infant Mortality Due to Congenital Anomalies: A Population-Based Case-Control Study. Iran J Public Health. 2022;51(5):1118-24.
189. Adibi J, Layden A, Birru R et al. First trimester mechanisms of gestational sac placental and foetal teratogenicity: a framework for birth cohort studies. Hum Reprod Update. 2021;27(4):747-70.
190. De Santis M, Di Gianantonio E, Straface G et al. Ionizing radiations in pregnancy and teratogenesis: a review of literature. Reprod Toxicol. 2005;20(3):323-9.
191. Dreier J, Andersen A, Berg-Beckhoff G. Systematic review and meta-analyses: fever in pregnancy and health impacts in the offspring. Pediatrics. 2014;133(3):e674-88.
192. Gilbert-Barness E. Teratogenic causes of malform. Ann Clin Lab Sci. 2010;40(2):99-114.

193. Tomson T, Battino D. Teratogenic effects of antiepileptic drugs. Lancet Neurol. 2012;11(9):803-13.
194. Narapureddy B, Zahrani Y, Alqahtani H et al. Examining the Prevalence of Congenital Anomalies in Newborns: A Cross-Sectional Study at a Tertiary Care Maternity Hospital in Saudi Arabia. Child (Basel, Switzerland). 2024;11(2).
195. Giannubilo S, Marzioni D, Tossetta G et al. The “Bad Father”: Paternal Role in Biology of Pregnancy and in Birth Outcome. Vol. 13, Biology. 2024.
196. Fishel Bartal M, Sibai B, Bart Y et al. The Impact of Sperm and Egg Donation on the Risk of Pregnancy Complications. Am J Perinatol. 2019;36(2):205-11.
197. Volosovets O, Kryuchko T, Veselskyi V et al. Congenital anomalies in children of Ukraine: 25-year monitoring of morbidity and prevalence. Wiad Lek. 2020;73(10):2193-7.
198. Braverman A. Old, older and too old: age limits for medically assisted fatherhood? Fertil Steril. 2017;107(2):329-33.
199. McPherson N, Fullston T, Kang W et al. Paternal under-nutrition programs metabolic syndrome in offspring which can be reversed by antioxidant/vitamin food fortification in fathers. Sci Rep . 2016;6(1):27010. Valabil la: https://doi.org/10.1038/srep27010
200. Easey K, Sharp G. The impact of paternal alcohol, tobacco, caffeine use and physical activity on offspring mental health: a systematic review and meta-analysis. Reprod Health. 2021;18(1):214.
201. Soubry A, Schildkraut J, Murtha A et al. Paternal obesity is associated with IGF2 hypomethylation in newborns: results from a Newborn Epigenetics Study (NEST) cohort. BMC Med. 2013;11:29.
202. Fornes D, Heinecke F, Gatti C, Roberti S, White V, Jawerbaum A, Capobianco E. Paternal diabetes programs sex-dependent placental alterations and fetal overgrowth. J Endocrinol. 2022;254(1):37-49.
203. Marinau L, Puiu I, Petrescu I, Singer C, Raciula S. Cerebral malformations diagnosed and supervised in paediatric clinic, Craiova, Romania. Arch Dis Child . 2017;102(Suppl 2):A45 LP-A45. Valabil la: http://adc.bmj.com/content/102/Suppl_2/A45.1.abstract
204. Popa C, Gogu G. Frequency of congenital malformations and chromosomal disorders in Bacau and Vaslui counties (Romania). J Genet. 2015;94(4):661-8.
205. Wertelecki W, Yevtushok L, Zymak-Zakutnia N et al. Blastopathies and microcephaly in a Chornobyl impacted region of Ukraine. Congenit Anom (Kyoto). 2014;54(3):125-49. Valabil la: https://doi.org/10.1111/cga.12051
206. Yuskiv N, Andelin C, Polischuk S et al. High rates of neural tube defects in Ukraine. Birth Defects Res Part A Clin Mol Teratol. 2004;70(6):400-2. Valabil la: https://doi.org/10.1002/bdra.20020
207. Sachdeva S, Nanda S, Bhalla K, Sachdeva R. Gross congenital malformation at birth in a government hospital. Indian J Public Health. 2014;58(1):54-6.
208. Kuhn J, Weisbrod L, Emmady P. Chiari Malformation Type 2. 2024; Valabil la: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557498/
209. McLone D, Knepper P. The cause of Chiari II malformation: a unified theory. Pediatr Neurosci. 1989;15(1):1-12.
210. Williams H. A unifying hypothesis for hydrocephalus, Chiari malformation, syringomyelia, anencephaly and spina bifida. Cerebrospinal Fluid Res. 2008;5:7.
211. Schneider J, Mohr N, Aliatakis N et al. Brain malformations and cognitive performance in spina bifida. Dev Med Child Neurol. 2021;63(3):295-302.
212. Kruszka P, Muenke M. Syndromes associated with holoprosencephaly. Am J Med Genet C Semin Med Genet. 2018;178(2):229-37.

213. Hadjiu S, Calcîi C, Groppa S. Epilepsia și sindroame epileptice la copii. Chişinău; 2023.
214. Guerrini R, Dobyns W. Malformations of cortical development: clinical features and genetic causes. Lancet Neurol. 2014;13(7):710-26.
215. Represa A. Why Malformations of Cortical Development Cause Epilepsy. Front Neurosci. 2019;13:250.
216. Wrzosek M, Ślusarczyk K. Methylenetetrahydrofolate Reductase C677T Gene Variant in Relation to Body Mass Index and Folate Concentration in a Polish Population. Biomedicines. 2022;10(12).
217. Weisberg I, Tran P, Christensen B, Sibani S, Rozen R. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. Mol Genet Metab. 1998;64(3):169-72.
218. Visternicean E. Rolul dereglărilor metabolismului metioninei la femeile cu avort spontan recurent : diagnostic şi corijare. Autoreferatul tezei de doctor în ştiinţe medicale. 2018.
219. Fesai O, Strelco G, Zaicenco G, Ulanova V. Analysis of frequencies of polymorphism of folate-cycle genes in women from different regions of ukraine: own study and review. Reprod Endocrinol. 2018;0(42 SE-Interdisciplinary problems):21-7. Valabil la: https://reproduct-endo.com/article/view/144267
220. Akar N, Akar E, Deda G, Arsan S. Spina bifida and common mutations at the homocysteine metabolism pathway. Clin Genet. 2000;57(3):230-1.
221. Nasri K, Ben Jamaa N et al. Association of MTHFR (C677T, A1298C) and MTRR A66G polymorphisms with fatty acids profile and risk of neural tube defects. Birth Defects Res. 2024;116(5):e2333. Valabil la: https://doi.org/10.1002/ bdr2.2333
222. Linden V, Heijer D, Afman L, Gellekink H, Vermeulen S, Kluijtmans L, Blom H. The methionine synthase reductase 66A>G polymorphism is a maternal risk factor for spina bifida. J Mol Med. 2006;84(12):1047-54. Valabil la: http://link.springer.com/10.1007/ s00109-006-0093-x
223. Yadav U, Kumar P, Yadav S, Mishra O, Rai V. Polymorphisms in folate metabolism genes as maternal risk factor for neural tube defects: an updated meta-analysis. Metab Brain Dis . 2015;30(1):7-24. Valabil la: https://doi.org/10.1007/s11011-014-9575-7
224. Zhang T, Lou J, Zhong R et al. Genetic Variants in the Folate Pathway and the Risk of Neural Tube Defects: A Meta-Analysis of the Published Literature. El-Maarri O, editor. PLoS One. 2013;8(4):e59570. Valabil la: https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0059570
225. Imbard A, Benoist J, Blom H. Neural tube defects, folic acid and methylation. Int J Environ Res Public Health. 2013;10(9):4352-89.
226. Almekkawi A, AlJardali M, Daadaa H et al. Folate Pathway Gene Single Nucleotide Polymorphisms and Neural Tube Defects: A Systematic Review and Meta-Analysis. J Pers Med. 2022;12(10).
227. Yadav U, Kumar P, Yadav S, Mishra O, Rai V. “Polymorphisms in folate metabolism genes as maternal risk factor for neural tube defects: an updated meta-analysis”. Metab Brain Dis. 2015;30(1):7-24.
228. Boyles A, Billups A, Deak K, Siegel D et al. Neural tube defects and folate pathway genes: family-based association tests of gene-gene and gene-environment interactions. Environ Health Perspect. 2006;114(10):1547-52.

LISTA ANEXELOR

Anexa 1. Rezultatele verificării eșantionării prin software-ul Quanto 147
Anexa 2. Fișa de evaluare clinico-anamnestică (factori de risc, anamneza vieții, anamneza bolii, tabloul clinic și cel paraclinic) 148
Anexa 3. Fișa de evaluare neurologică a copilului 153
Anexa 4. Factorii de risc paterni în diferite subgrupuri 155
Anexa 5. Factorii de risc materni în diferite subgrupuri 157
Anexa 6. Distribuția genotipurilor genei MTHFR677 per formă de MCSN în comparație cu celelalte cazuri de *MCSN* și *control* 16060
Anexa 7. Distribuția genotipurilor genei MTHFR1298 per formă de MCSN în comparație cu celelalte cazuri de *MCSN* și *control* 1622
Anexa 8. Distribuția genotipurilor genei *MTR2756* per formă de MCSN în comparație cu celelalte cazuri de *MCSN* și *control* 1644
Anexa 9. Distribuția genotipurilor genei *MTRR66* per formă de MCSN în comparație cu celelalte cazuri de *MCSN* și *control* 166
Anexa 10. Estimări de risc pentru factorii genetici (genotipul matern al genelor ciclului folat) per subtip de MCSN 168
Anexa 11. Valorile riscului relativ și riscului atribuibil pentru factorii genetici (genotipul matern al genelor ciclului folat) și epigenetici în apariția MCSN/FMCSN 1744
Anexa 12. Acte de implementare a inovațiilor 176
Anexa 13. Acte de implementare la nivel instituțional 181
Anexa 14. Certificate de inovator 186
Anexa 15. Brevet de invenție 196
Anexa 16. Adeverință privind înscrierea obiectelor dreptului de autor și ale drepturilor conexe 197
Anexa 17. Diplomă (medalie de aur) la un forum de invenții și inovații 198
Anexa 18. Lista publicațiilor și participărilor la forumuri științifice 199

Anexa 1

Rezultatele verificării eșantionării prin software-ul Quanto

Gena MTFHR677

Outcome:	Disease
Design:	Matched case-control
Hypothesis:	Gene only
Desired power:	0.800000
Significance:	0.050000, 1-sided
Gene	
Mode of inheritance:	Log-additive
Allele frequency:	0.3150
Disease model	Summary parameters
$*P_0$ 0.000677	k_P 0.001170
R_G: 2.0000	(*indicates calculated value)

Parameter	N	Null	Full	Reduced
Gene	57	$\beta_G=0$	β_G	——

Gena *MTFHR1298*

Outcome:	Disease
Design:	Matched case-control
Hypothesis:	Gene only
Desired power:	0.800000
Significance:	0.050000, 1-sided
Gene	
Mode of inheritance:	Log-additive
Allele frequency:	0.3450
Disease model	Summary parameters
$*P_0$ 0.000647	k_P 0.001170
R_G: 2.0000	(*indicates calculated value)

Parameter	N	Null	Full	Reduced
Gene	56	$\beta_G=0$	β_G	——

Gena *MTR2756*

Outcome:	Disease
Design:	Matched case-control
Hypothesis:	Gene only
Desired power:	0.800000
Significance:	0.050000, 1-sided
Gene	
Mode of inheritance:	Log-additive
Allele frequency:	0.2610
Disease model	Summary parameters
$*P_0$ 0.000736	k_P 0.001170
R_G: 2.0000	(*indicates calculated value)

Parameter	N	Null	Full	Reduced
Gene	61	$\beta_G=0$	β_G	——

Gena *MTRR66*

Outcome:	Disease
Design:	Matched case-control
Hypothesis:	Gene only
Desired power:	0.800000
Significance:	0.050000, 1-sided
Gene	
Mode of inheritance:	Log-additive
Allele frequency:	0.3210
Disease model	Summary parameters
$*P_0$ 0.000671	k_P 0.001170
R_G: 2.0000	(*indicates calculated value)

Parameter	N	Null	Full	Reduced
Gene	57	$\beta_G=0$	β_G	——

Notă: *outcome (rezultat scontat); disease (maladia); design (schema studiului); matched case-control (studiu caz-control); hypothesis (ipoteza testată); gene only (studiul asocierii genelor cu maladia); desired power (puterea studiului); significance (semnificație statistică); gene (genă); mode of inheritance (modelul moștenirii); log-additive (modelul multiplicativ); allele frequency (frecvența alelei în populație); disease model (modelul de studiu); summary parameters (parametri).*

Anexa 2

Fișa de evaluare clinico-anamnestică (factori de risc, anamneza vieții, anamneza bolii, tabloul clinic și cel paraclinic)

1.Date personale: Cod pacient _____

Fisa nr._____

Data nașterii_____

Sex: 1.masc. 2.fem.

Loc de trai: (1) rural, (2) urban

Adresa_____

2.Caracteristica socio-demografică a familiei:

Nr. de copii în familie: 1, 2, 3, 4, mai mulți_____

Alți copii bolnavi în familie:(1) PCI, (2) boli genetice, (3) MC cord, (4) MC creier, (5) boli metabolice; (6) alte_____

3.Antecedentele heredo-colaterale:

Măsurile de profilaxie primară în sarcină:

Administrarea acidului folic: Nu _, Da_ (doza)_____

Perioada administrării: (1) trei luni înainte de concepere, (2) primul trimestru de sarcină, (2) al doilea trimestru de sarcină, (3) al treilea trimestru de sarcină, (4) nu a administrat.

Regularitatea administrării (1) regulat, (2) neregulat.

4.Starea socio-economică a familiei, condiții de trai:

(1) foarte bune: (1) DA, (2) Nu

(2) bune: (1) DA, (2) Nu

(3) satisfăcătoare: (1) DA, (2) Nu

(4) nefavorabile: (1) DA, (2) Nu

5.Vârsta părinților (ani):

Mama: (1) < 18, (2) 18-25, (3) 25-35, (4) > 35, alte vârste_____

Tata: (1) < 18, (2) 18-25, (3) 25-35, (4) > 35, alte vârste_____

6.Anamnesticul ginecologic:

Numărul sarcinii: 1, 2, 3, 4, mai multe_____

Numărul nașterii: 1, 2, 3, 4, mai multe_____

Avorturi spontane în anamneză (numărul) _____

Evoluția sarcinii: (1) fără patologie, (2) gestoză, (3) eminența de avort spontan, (4) utilizarea preparatelor / tratamentului medicamentos.

Infecții:

• toxoplasma (1) DA, (2) Nu

• chlamidioză (1) DA, (2) Nu

• citomegalovirus (1) DA, (2) Nu

• herpes(1) DA, (2) Nu

7. Factori nocivi la locul de trai părinților

Mama: (1) DA, (2) Nu

Tata: (1) DA, (2) Nu

Fumatul mama, tata: activ, pasiv

Alcool: mama, tata

Droguri: mama, tata

Medicamente:mama,tata_____

Alte nocivități: mama, tata _____

8. Starea de sănătate a părinților (până la conceperea fătului)

Mama:

Sănătoasă: (1) DA, (2) Nu

Anemie: (1) DA, (2) Nu

Pielonefrita: (1) DA, (2) Nu

Viciu cardiac: (1) DA, (2) Nu
Epilepsie: (1) DA, (2) Nu
Hipotireoza: (1) DA, (2) Nu
Diabet zaharat: (1) DA, (2) Nu
Hipertensiune arterială: (1) DA, (2) Nu
Boli de sânge: (1) DA, (2) Nu
Boli genetice: (1) DA, (2) Nu
Exces ponderal: (1) DA, (2) Nu
Obezitate: (1) DA, (2) Nu
Alte boli
Tata:
Sănătos: (1) DA, (2) Nu
Anemie: (1) DA, (2) Nu
Pielonefrita: (1) DA, (2) Nu
Viciu cardiac: (1) DA, (2) Nu
Epilepsie: (1) DA, (2) Nu
Hipotireoză: (1) DA, (2) Nu
Diabet zaharat: (1) DA, (2) Nu
Hipertensiune arterială: (1) DA, (2) Nu
Boli de sânge: (1) DA, (2) Nu
Exces ponderal: (1) DA, (2) Nu
Obezitate: (1) DA, (2) Nu
Boli genetice: (1) DA, (2) Nu
Boli de sânge: (1) DA, (2) Nu

9.Datele de anamneză: antecedente prenatale
afecțiuni genetice în familie: (1) DA, (2) Nu
consangvinitate: (1) DA, (2) Nu
avorturi medicale: 1, 2, 3, mai multe
avorturi spontane: 1, 2, 3, mai multe
sarcini stagnate în evoluție: (1) DA, (2) Nu; numărul_____
consum de alcool: (1) DA, (2) Nu
tabagism: (1) DA, (2) Nu
droguri: (1) DA, (2) Nu
substanțe chimice și munca cu acestea: (1) DA, (2) Nu
radiații: (1) DA, (2) Nu

10.Boli asociate la mamă (în timpul sarcinii)
Anemie: (1) DA, (2) Nu
Pielonefrită: (1) DA, (2) Nu
Viciu cardiac: (1) DA, (2) Nu
Epilepsie: (1) DA, (2) Nu
Hipotireoză: (1) DA, (2) Nu
Diabet zaharat: (1) DA, (2) Nu
Hipertensiune arterială: (1) DA, (2) Nu
Hepatită: (1) DA, (2) Nu
Alte boli_____

11.Evoluția sarcinii
Fiziologică: (1) DA, (2) Nu
Patologică: (1) DA, (2) Nu
Iminență de avort: (1) DA, (2) Nu
Gestoză: (1) DA, (2) Nu
Infecții (frecvente): (1) DA, (2) Nu; ce fel _____
Convulsii: (1) DA, (2) Nu

Supraponderabilitate: (1) DA, (2) Nu
Obezitate: (1) DA, (2) Nu
Căzături, traumatisme: (1) DA, (2) Nu
Hipertensiune arterială: (1) DA, (2) Nu
Nefropatie: (1) DA, (2) Nu
Pre-eclampsie: (1) DA, (2) Nu
Eclampsie: (1) DA, (2) Nu
Patologia placentei: maturare timpurie, tardivă; dimensiuni mari; atașament jos; placenta praevia; chisturi; mazolysis; increment și atașare etanșă; alte patologii_____
IIU: CMV, HS I, HS II, HS VI, alte infecții_____
Corioamnionită: (1) DA, (2) Nu
Polihidroamnios: (1) DA, (2) Nu
Ecografia: termenul de sarcină: 12-14 săptămâni, alți termeni_____
Screening-ul biochimic: dublu PAPP-A, β-HCG, triplu test α-fetoproteina, β-HCG, estriol neconjugat; alte teste_____

12.Antecedente postnatale:

Scorul APGAR:

1 Îndată după naștere: (1) 0-3; (2) 4-7, (3) 7-8, (4) 9-10
2 Peste 5 minute: (1) 0-3; (2) 4-7, (3) 7-8, (4) 9-10

Parametrii antropometrici la naștere

2.1 Greutate (kg)_____
2.2 Talie (cm)_____
2.3 Pc (perimetru cranian) (cm)_____

Parametrii antropometrici pe parcursul vieții

2.4 Greutate (kg): 3 luni_____, 6 luni_____, 9 luni_____, 12 luni_____, la momentul adresării_____
2.5 Talie (cm): 3 luni_____, 6 luni_____, 9 luni_____, 12 luni_____, la momentul adresării_____
2.6 Pc (perimetru cranian) (cm): 3 luni_____, 6 luni_____, 9 luni_____, 12 luni_____, la momentul adresării_____

Maladii diagnosticate pe parcursul vieții:
Paralizie cerebrală: (1) tetraplegică, (2) diplegică, (3) hemiplegică, (4) atonico-astatică
Hemipareză: (1) dreapta: (1) DA, (2) Nu, (2) stânga: (1) DA, (2) Nu
Tetrapareză: (1) DA, (2) Nu
Tetraplegie: (1) DA, (2) Nu
Anomalie de dezvoltare a creierului, tipul:_____

13.Modificări NSG la naștere:

Anencefalie: (1) DA, (2) Nu
Hidrocefalie: (1) DA, (2) Nu
Macrocefalie: (1) DA, (2) Nu
Microcefalie: (1) DA, (2) Nu
Holoprozencefalie: (1) DA, (2) Nu
Displazia cerebrala: (1) DA, (2) Nu
Pahigirie: (1) DA, (2) Nu
Heterotopii: (1) DA, (2) Nu
Micropoligirie: (1) DA, (2) Nu
Agirie: (1) DA, (2) Nu
Encefalomalacie multichistică: (1) DA, (2) Nu
Alte modificări_____

14.Modificări EEG:

activitate paroxismală: (1) DA, (2) Nu

activitate epileptiformă: (1) localizată, (2) generalizată
unde lente: (1) DA, (2) Nu
unde lente ascuțite: (1) DA, (2) Nu
vârfuri/lente izolate: (1) DA, (2) Nu
vârfuri/lente regrupate: (1) DA, (2) Nu
vârfuri-undă izolate: (1) DA, (2) Nu
vârfuri-undă regrupate: (1) DA, (2) Nu
polivârfuri: (1) DA, (2) Nu
polivârfuri-undă: (1) DA, (2) Nu
activitate lentă izolată: (1) DA, (2) Nu
activitate lentă difuză: (1) DA, (2) Nu
hipsaritmie: (1) DA, (2) Nu
unde tip „*suppression burst*”: (1) DA, (2) Nu
alte modificări_____

15.Modificări CT cerebrală:
Anencefalie: (1) DA, (2) Nu
Hidrocefalie: (1) DA, (2) Nu
Macrocefalie: (1) DA, (2) Nu
Microcefalie: (1) DA, (2) Nu
Holoprozencefalie: (1) DA, (2) Nu
Displazie cerebrala: (1) DA, (2) Nu
Pahigirie: (1) DA, (2) Nu
Heterotopii: (1) DA, (2) Nu
Micropoligirie: (1) DA, (2) Nu
Agirie: (1) DA, (2) Nu
Cavități porencefalice: (1) DA, (2) Nu
Dilatarea spațiilor subarahnoidiene: (1) DA, (2) Nu
Ventriculomegalie: (1) DA, (2) Nu
Porencefalie: (1) DA, (2) Nu
Encefalomalacie multichistică: (1) DA, (2) Nu
Alte modificări_____

16.Modificări IRM cerebrală:
Anencefalie: (1) DA, (2) Nu
Hidrocefalie: (1) DA, (2) Nu
Macrocefalie: (1) DA, (2) Nu
Microcefalie: (1) DA, (2) Nu
Holoprozencefalie: (1) DA, (2) Nu
Displazie cerebrala: (1) DA, (2) Nu
Pahigirie: (1) DA, (2) Nu
Heterotopii: (1) DA, (2) Nu
Micropoligirie: (1) DA, (2) Nu
Agiria: (1) DA, (2) Nu
Cavități porencefalice: (1) DA, (2) Nu
Ventriculomegalie: (1) DA, (2) Nu
Porencefalie: (1) DA, (2) Nu
Encefalomalacie multichistică: (1) DA, (2) Nu
Alte modificări_____

Descrierea anomaliei congenitale.

_____

17. Corecția chirurgicală: efectuată / planificată la 1 an de viața, după un an, prenatal, nu au fost indicată, prea severă pentru intervenție, necunoscut

_____

18. Când și cu ce măsuri a fost depistată MCSN?

1. Când – la naștere /1 săpt viață / 1 – 4 săpt / 1 – 12 luni /După 1 an / prenatal / după avort/ după naștere vârstă necunoscută
2. Dacă prenatal – cum: USG până la 14 s / USG la 14 – 21 s / USG >22 s /USG term necunosc / biochim / biops corion / amniocentez / alte met, rez pozitiv / diagnosticul prenatal fără rezultat / alte metode fără rezultat

_____

19. Rezultatele testelor genei MTHFR

_____

_____

_____

20. Rezultatele investigațiilor paraclinice și de laborator, alte teste genetice:

_____

_____

_____

21.Diagnostic_____

_____

_____

(fotografie medicală)_____

22. Tratament

_____

_____

_____

_____

23. Prognosticul

_____

_____

24. Concluzii. Recomandări.

_____

Anexa 3

Fișa de evaluare neurologică a copilului

I. DATE GENERALE PRIVIND COPILUL
Cod pacient _____
Domiciliu _____
Data, luna, anul nașterii _____
Acuze la momentul vizitei _____
_____
Anamneza bolii _____
_____
Măsuri de profilaxie primară în sarcină: administrarea acidului folic: Nu _ Da_ (doza)____
Anamneza perinatală: masa la naștere _____ g; Lungimea _____ (cm); PC _____ (cm); Sc. APGAR _____
Anamneza eredocolaterală (antecedente familiale, cosangvinitate, decese neonatale)
_____
Diagnosticul la naștere _____
_____
Vaccinat: Nu Da _____
II. EXAMENUL OBECTIV
Tegumentele și mucoasele: de culoare obișnuită, cianoză, icter, eritem, paloare, erupții alergice, steluțe vasculare, hemoragii
Țesuturile celulare subcutanate: lipoame, alte formațiuni localizate (prezente, absente)
Sistemul osteoarticular. Coloana vertebrală: dezvoltare normală, deformații (chifoză, scolioză, hiperlordoză, stern infundibuliform) – puncte dureroase (paravertebrale, cervicale, toracale, lombare)
Extremități: mobilitate articulară (deplină, redoare, edeme, anomalii)
Aparatul respirator (fără patologie, dereglări de respirație) și **cardiovascular** (fără patologie, bradicardie, tahicardie, palpitații)
Aparatul urogenital: dereglări sfincteriene (prezente, absente)
III. STATUSUL NEUROLOGIC
Conștiența: clară, somnolent, dezorientat, dezvoltare neuropsihică corespunzătoare vârstei
Poziția: normală, patogenă
Semne de dismorfism: absente, prezente _____
Examenul cranian:
PCr _____ (cm): normocefalie, macrocefalie, microcefalie
Fontanela anterioară: închisă, deschisă: **(FA ____ cm):** normotensivă, hipertensivă, hipotensivă
Suturile craniene: închise, deschise, dehiscente. suprapuse
Forma craniului: normocefalică, dolicocefalică, hidrocefalică, microcefalică, plagiocefalică
Examenul nervilor cranieni:
N. olfactiv: fără patologie, anosmie, hiposmie, hiperosmie
N. optic: fără patologie, ambliopie (OD / OS), amavroză (OD / OS), câmpul vizual (hemianopsie omonimă / heteronimă, macropsie, micropsie, scotoame)
N. oculomotori: fantele palpebrale (D=S, D<S, D>S), ptoza OD / OS, exoftalmie bilaterală OD / OS; pupilele (D=S, mioză OD / OS, midreză OD / OS, anizocorie OD / OS), fotoreacția pupilară (vie OD=OS, diminuată OD / OS, absentă OD / OS), mișcările extraoculare (în volum deplin, limitate bilateral, strabism convergent / divergent, nistagmus), convergență normală / diminuată, acomodație normală / diminuată OD / OS
Fixează privirea: Da Nu. **Urmărește cu privirea:** Da Nu
N. trigemen – palpația punctelor lui Valliex: supraorbitar, suborbitar și mentonier (sensibile, dureroase, fără patologie), sensibilitatea superficială (intactă, hipo- / hiperestezie, anestezie),

reflexul cornean (prezent, diminuat, absent)
N. facial: fața (simetrică, asimetrică), logoftalmie (D / S), dereglări gustative 2/3 anterioare ale limbii (prezente; absente); hiperlacrimare (prezente; absente) .
N. Vestibulocohlear – hipoacuzie (unilaterală; bilaterală); surditate (unilaterală; bilaterală); nistagm (prezent; absent); echilibru (stabil; instabil); testul Romberg (pozitiv; tremor de intenție; negativ); acufene (pozitiv; negativ); dereglări gustative 1/3 posterioara a limbii (prezente; absente); reflex faringian (prezent; diminuat; absent);
N. Vag – reflex velopalatin (prezent; diminuat; absent); disfagie (prezent; absent); disfonie (prezent; absent);
N. Hipoglos – poziția limbii (pe linie medie; deviată spre D sau S); hemihipotrofie; fasciculații;
Sdr. Bulbar – pozitiv, negativ,
Sdr. Pseudobulbar – pozitiv, negativ,
Tonusul muscular – hipotonie ușoară; moderată; severă (D; S); hipertonie ușoară; moderată; severă (D; S); mișcări involuntare.
Forța musculară – volum deplin (5p); diminuată(3p); severă (1-3p);
Evaluarea tonusului muscular: normal, hipotonie, hipertonie, distonie, atonie.
Strângerea pumnișorului: prezent: norma, patologia; asimetric; absent.
Încrucișarea picioarelor: prezent, absent.
Mers în vârful degetelor: prezent; absent.
Compararea hemicorpului drept-stâng: -simetric;- asimetric: D>S; D<S.
Motricitatea spontană generală: normală, anormală.
Calendarul achizițiilor motoricii grosiere:
Controlul capului în axă: normă; patologie___luni; absent.
Stă pe șezut: cu sprijin; fără sprijin; norma; patologie___luni; absent.
Merge: cu sprijin; fără sprijin; norma; patologie___luni; absent.
Reflexele osteotendinoase: D=S; D<S, D>S. Vii, înviorate; exagerate; atenuate; inhibate. Clonus.
Sistemul nervos periferic: intact; afectat (specificați):_____
Convulsii: – absente; -prezente: tonice: focale, generalizate; clonice: focale, multifocale;
Mioclonice: focale, multifocale, generalizate.
Reacția socială:
Zâmbește: da; nu.
Vocalizează: da; nu.
Silabizează: da, nu
Vorbește: neclar, clar.
Folosește gesturile: da; nu.
Comportamentul în timpul examinării.
Nivel de veghe și atenție: -normal pentru vârstă; -deficit moderat; -deficit sever.
Hiperexitabilitate: da, nu.
Hiporeactivitate: da; nu.
Descrierea anomaliei congenitale. Fenotipul. (după caz) _____
_____
Rezultatele investigațiilor paraclinice și de laborator, teste genetice: Diagnostic _____
Concluzii. Recomandări.
_____
_____
_____
_____
_____
_____

Anexa 4

Factorii de risc paterni în diferite subgrupuri

	Cazuri (frecvență) în subgrupuri			Comparații statistice	
	CONTROL (n = 70)	**MCSN (n = 70)**	**FMCSN (n = 16)**	**MCSN vs CONTROL**	**FMCSN vs CONTROL**
Infecțioși					
Infecție/TORCH	2,0 (2,9%)	34 (48,6%)	10 (62,5%)	χ^2 = 35,93; gl = 1, p = **2,04e-09** V = 0,507 **OR = 25,90; IÎ$_{95\%}$ (6,75; 99,41)**	$\chi^2_{(MC)}$ = 38,59; gl = 1, p = **9,99e-05** V = 0,670 **OR = 44,26; IÎ$_{95\%}$ (8,97; 218,52)**
Comportamentali/stil de viață					
Tabagism	2,0 (2,9%)	36 (51,4%)	11 (68,8%)	χ^2 = 39,33; gl = 1, **p = 3,571e-10** V = 0,530 **OR = 28,99; IÎ$_{95\%}$ (7,55; 111,28)**	$\chi^2_{(MC)}$ = 44,07; gl = 1, **p = 9,9999e-05** V = 0,716 **OR = 57,29; IÎ$_{95\%}$ (11,33; 289,57)**
Consum de alcool	3,0 (4,3%)	35 (50,0%)	11 (68,8%)	χ^2 = 34,71; gl = 1, **p = 3,82e-09** V = 0,498 **OR = 19,29; IÎ$_{95\%}$ (5,98; 62,19)**	$\chi^2_{(MC)}$ = 39,71; gl = 1, **p = 9,99e-05** V = 0,680 **OR = 40,32; IÎ$_{95\%}$ (9,19; 176,94)**
Consum de droguri	0 (0%)	6 (8,6%)	2 (12,5%)	$\chi^2_{(MC)}$) = 6,27; gl = 1, **p = 0,0281** V = 0,212 OR = 14,21; IÎ$_{95\%}$ (0,78; 257,28)	$\chi^2_{(MC)}$ = 8,96; gl = 1, **p = 0,0306** V = 0,323 **OR = 24,31; IÎ$_{95\%}$ (1,11; 533,51)**
Sănătate generală/patologii concomitente					
Utilizare medicație	0 (0%)	5 (7,1%)	0 (0%)	$\chi^2_{(MC)}$) = 5,19; gl = 1, p = 0,05809 V = 0,192 OR = 11,84; IÎ$_{95\%}$ (0,64; 218,34)	-
Se află în evidență la medici-specialiști	35 (50%)	26 (37,1%)	7 (43,8%)	χ^2 = 1,86; gl = 1, p = 0,1727 V = 0,115 OR = 0,60; IÎ$_{95\%}$ (0,30; 1,16)	χ^2 = 0,03; gl = 1, p = 0,8618 V = 0,019 OR = 0,79; IÎ$_{95\%}$ (0,27; 2,29)
Anemie	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	-	-
Pielonefrită	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	-	-
Viciu cardiac	0 (0%)	6 (8,6%)	1 (6,2%)	$\chi^2_{(MC)}$ = 6,27; gl = 1, **p = 0,0285** V = 0,212 OR = 14,21; IÎ$_{95\%}$ (0,78; 257,28)	$\chi^2_{(MC)}$ = 4,43; gl = 1, p = 0,1902 V = 0,227 OR = 13,65; IÎ$_{95\%}$ (0,53; 351,05)
Epilepsie	0 (0%)	5 (7,1%)	1 (6,2%)	$\chi^2_{(MC)}$ = 5,19; gl = 1, p = 0,05619 V = 0,192 OR = 11,84; IÎ$_{95\%}$ (0,64; 218,34)	$\chi^2_{(MC)}$ = 4,43; gl = 1, p = 0,1822 V = 0,227 OR = 13,65; IÎ$_{95\%}$ (0,53; 351,05)
Hipotireoză	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	-	-
Diabet zaharat	0 (0%)	9 (12,9%)	3 (18,8%)	$\chi^2_{(MC)}$ = 9,62; gl = 1, **p = 0,0038** V = 0,262 **OR = 21,78; IÎ$_{95\%}$ (1,24; 381,98)**	$\chi^2_{(MC)}$ = 13,60; gl = 1, **p = 0,005** V = 0,398 **OR = 36,56; IÎ$_{95\%}$ (1,78; 749,00)**
HTA	0	10	3	χ^2 = 8,72; gl = 1,	$\chi^2_{(MC)}$ = 13,60; gl = 1,

	(0%)	(14,3%)	(18,8%)	**p = 0,0031** V = 0,250 **OR = 24,47; IÎ$_{95\%}$** **(1,40; 426,37)**	**p = 0,005** V = 0,398 **OR = 36,56; IÎ$_{95\%}$** **(1,78; 749,00)**
Boli hematologice	0 (0%)	2 (2,9%)	2 (3,7%)	$\chi^2_{(MC)}$ = 2,03; gl = 1, p = 0,505 V = 0,120 OR = 5,15; IÎ$_{95\%}$ (0,24; 109,16)	-
Boli genetice	0 (0%)	2 (2,9%)	1 (6,2%)	$\chi^2_{(MC)}$ = 2,03; gl = 1, p = 0,505 V = 0,120 OR = 5,15; IÎ$_{95\%}$ (0,24; 109,16)	$\chi^2_{(MC)}$ = 4,43; gl = 1, p = 0,1803 V = 0,227 OR = 13,65; IÎ$_{95\%}$ (0,53; 351,05)
Supraponderal (IMC = 25-30)	0 (0%)	6 (8,6%)	2 (12,5%)	$\chi^2_{(MC)}$ = 6,27; gl = 1, **p = 0,0283** V = 0,212 OR = 14,21; IÎ$_{95\%}$ (0,78; 257,28)	$\chi^2_{(MC)}$ = 8,96; gl = 1, **p = 0,0383** V = 0,323 **OR = 24,31; IÎ$_{95\%}$** **(1,11; 533,51)**
Obezitate (IMC >30)	0 (0%)	3 (4,3%)	0 (0%)	$\chi^2_{(MC)}$ = 3,07; gl = 1, p = 0,2485 V = 0,148 OR = 7,31; IÎ$_{95\%}$ (0,37; 144,23)	-

Anexa 5

Factorii de risc materni în diferite subgrupuri

	Cazuri (frecvență) în subgrupuri			Comparații statistice	
	CONTROL (n = 70)	**MCSN (n = 70)**	**FMCSN (n = 16)**	**MCSN vs CONTROL**	**FMCSN vs CONTROL**
Infecțioși					
Infecție/TORCH	5 (7,1%)	39 (55,7%)	11 (68,8%)	χ^2 = 36,09; gl = 1, **p = 1,88e-09** V = 0,508 **OR = 14,93; IÎ$_{95\%}$ (5,56; 40,11)**	$\chi^2_{(MC)}$ = 32,64; gl = 1, **p = 9,99e-05** V = 0,616 **OR = 24,90; IÎ$_{95\%}$ (6,53; 94,89)**
Comportamentali/stil de viață					
Tabagism	3 (4,3%)	8 (11,4%)	2 (12,5%)	χ^2 = 1,58; gl = 1, p = 0,209 V = 0,106 OR = 2,62; IÎ$_{95\%}$ (0,72; 9,54)	$\chi^2_{(MC)}$ = 1,60; gl = 1, p = 0,2304 V = 0,137 OR = 3,33; IÎ$_{95\%}$ (0,60; 18,56)
Consum de alcool	2 (2,9%)	14 (20,0%)	4 (25%)	χ^2 = 8,54; gl = 1, **p = 0,003477** V = 0,247 **OR = 7,03; IÎ$_{95\%}$ (1,76; 28,17)**	$\chi^2_{(MC)}$ = 9,84; gl = 1, **p = 0,008599** V = 0,338 **OR = 9,86; IÎ$_{95\%}$ (1,88; 51,85)**
Consum de droguri	0 (0%)	6 (8,6%)	2 (12,5%)	$\chi^2_{(MC)}$ = 6,27; gl = 1, **p = 0,0258** V = 0,212 OR = 14,21; IÎ$_{95\%}$ (0,78; 257,28)	$\chi^2_{(MC)}$ = 8,96; gl = 1, **p = 0,0314** V = 0,323 **OR = 24,31; IÎ$_{95\%}$ (1,11; 533,51)**
Sănătate generală/patologii concomitente					
Utilizare medicație	3 (4,3%)	12 (17,1%)	1 (6,2%)	χ^2 = 4,78; gl = 1, **p = 0,02881** V = 0,185 **OR = 4,12; IÎ$_{95\%}$ (1,20; 14,18)**	$\chi^2_{(MC)}$ = 0,11; gl = 1, p = 1 V = 0,036 OR = 1,87; IÎ$_{95\%}$ (0,25; 13,66)
Se află în evidență la medici-specialiști	13 (18,6%)	45 (64,3%)	10 (62,5%)	χ^2 = 28,29; gl = 1, **p = 1,045e-07** V = 0,450 **OR = 7,60; IÎ$_{95\%}$ (3,53; 16,35)**	χ^2 = 12,83; gl = 1, **p = 0,00089** V = 0,386 **OR = 6,88; IÎ$_{95\%}$ (2,19; 21,59)**
Anemie	2 (2,9%)	27 (38,6%)	6 (37,5%)	χ^2 = 25,05; gl = 1, **p = 5,583e-07** V = 0,423 **OR = 17,32; IÎ$_{95\%}$ (4,49; 66,77)**	$\chi^2_{(MC)}$ = 18,53 gl = 1, **p = 0,0005** V = 0,464 **OR = 16,96; IÎ$_{95\%}$ (3,44; 83,74)**
Pielonefrită	10 (14,3%)	32 (45,7%)	8 (50%)	χ^2 = 15,00; gl = 1, **p = 0,00001075** V = 0,327 **OR = 4,86; IÎ$_{95\%}$ (2,18; 10,87)**	$\chi^2_{(MC)}$ = 10,04 gl = 1, **p = 0,0048** V = 0,342 **OR = 5,76; IÎ$_{95\%}$ (1,82; 18,28)**
Viciu cardiac	3 (4,3%)	4 (5,7%)	2 (12,5%)	$\chi^2_{(MC)}$ = 0,15; gl = 1, p = 1 V = 0,033 OR = 1,31; IÎ$_{95\%}$ (0,31; 5,49)	$\chi^2_{(MC)}$ = 1,60; gl = 1, p = 0,2312 V = 0,137 OR = 3,33; IÎ$_{95\%}$ (0,60; 18,56)
Epilepsie	0 (0%)	7 (10%)	2 (12,5%)	$\chi^2_{(MC)}$ = 7,37; gl = 1, **p = 0,0143** V = 0,229 OR = 16,65; IÎ$_{95\%}$ (0,93; 297,50)	$\chi^2_{(MC)}$ = 8,96; gl = 1, **p = 0,0337** V = 0,323 **OR = 24,31; IÎ$_{95\%}$ (1,11; 533,51)**
Hipotireoză	1 (1,4%)	5 (7,1%)	1 (6,2%)	$\chi^2_{(MC)}$ = 2,79; gl = 1, p = 0,2087 V = 0,141 OR = 3,89; IÎ$_{95\%}$ (0,62; 24,42)	$\chi^2_{(MC)}$ = 1,33; gl = 1, p = 0,3372 V = 0,124 OR = 4,48; IÎ$_{95\%}$ (0,44; 46,05)

Diabet zaharat	0 (0%)	3 (4,3%)	0 (0%)	$\chi^2_{(MC)}$ = 3,07; gl = 1, p = 0,2479 V = 0,148 OR = 7,31; IÎ$_{95\%}$ (0,37; 144,23)	-
HTA	3 (4,3%)	22 (31,4%)	5 (31,2%)	χ^2 = 15,78; gl = 1, **p = 7,125e-05** V = 0,336 **OR = 8,95; IÎ$_{95\%}$ (2,74; 29,27)**	$\chi^2_{(MC)}$ = 11,22; gl = 1, **p = 0,005299** V = 0,361 **OR = 9,22; IÎ$_{95\%}$ (2,10; 40,47)**
Boli hematologice	0 (0%)	2 (2,9%)	1 (6,2%)	$\chi^2_{(MC)}$ = 2,03; gl = 1, p = 0,505 V = 0,120 OR = 5,15; IÎ$_{95\%}$ (0,24; 109,16)	$\chi^2_{(MC)}$ = 4,43; gl = 1, p = 0,1822 V = 0,227 OR = 13,65; IÎ$_{95\%}$ (0,53; 351,05)
Boli genetice	0 (0%)	7 (10%)	3 (18,8%)	$\chi^2_{(MC)}$ = 7,37; gl = 1, **p = 0,0143** V = 0,229 OR = 16,65; IÎ$_{95\%}$ (0,93; 297,50)	$\chi^2_{(MC)}$ = 13,60; gl = 1, **p = 0,0057** V = 0,398 **OR = 36,56; IÎ$_{95\%}$ (1,78; 749,00)**
Supraponderală (IMC = 25-30)	0 (0%)	27 (38,6%)	6 (37,5%)	$\chi^2_{(MC)}$ = 31,02; gl = 1, **p = 2,555e-08** V = 0,471 **OR = 89,14; IÎ$_{95\%}$ (5,30; 1498,98)**	$\chi^2_{(MC)}$ = 28,22; gl = 1, **p = 9,999e-05** V = 0,573 **OR = 87,29; IÎ$_{95\%}$ (4,57; 1665,44)**
Obezitate (IMC >30)	3 (4,3%)	4 (5,7%)	1 (6,2%)	$\chi^2_{(MC)}$ = 0,15; gl = 1, p = 1 V = 0,033 OR = 1,31; IÎ$_{95\%}$ (0,31; 5,49)	$\chi^2_{(MC)}$ = 0,11; gl = 1, p = 1 V = 0,029 OR = 1,31; IÎ$_{95\%}$ (0,29; 6,02)
Factori din anamneza obstetrico-ginecologică (prenatali)					
Avorturi spontane în anamneză	11 (15,7%)	19 (27,1%)	4 (25%)	χ^2 = 2,08; gl = 1, p = 0,1494 V = 0,122 OR = 1,96; IÎ$_{95\%}$ (0,86; 4,44)	$\chi^2_{(MC)}$ = 0,78; gl = 1, p = 0,4594 V = 0,095 OR = 1,86; IÎ$_{95\%}$ (0,53; 6,49)
Maladii genetice în familie	0 (0%)	18 (25,7%)	4 (25%)	χ^2 = 18,42; gl = 1, **p = 1,768e-05** V = 0,363 **OR = 49. 69 IÎ95% (2,93; 843,38)**	$\chi^2_{(MC)}$ = 18,35; gl = 1, **p = 0,0007** V = 0,462 **OR = 50,76; IÎ95% (2,57; 1002,43)**
Avorturi medicale în anamneză	6 (8,6%)	13 (18,6%)	3 (18,8%)	χ^2 = 2,19; gl = 1, p = 0,1387 V = 0,125 OR = 2,33; IÎ$_{95\%}$ (0,86; 6,34)	$\chi^2_{(MC)}$ = 1,44; gl = 1, p = 0,364 V = 0,129 OR = 2,57; IÎ$_{95\%}$ (0,62; 10,70)
Sarcini stagnate în evoluție	3 (4,3%)	14 (20%)	4 (25%)	χ^2 = 6,70; gl = 1, **p = 0,009666** V = 0,219 **OR = 4,95; IÎ$_{95\%}$ (1,46; 16,76)**	$\chi^2_{(MC)}$ = 7,47; gl = 1, **p = 0,0196** V = 0,295 **OR = 6,94; IÎ$_{95\%}$ (1,52; 31,80)**
Factori în timpul sarcinii (intrauterini)					
Consangvinitate	0 (0%)	10 (14,3%)	3 (18,8%)	χ^2 = 8,72; gl = 1, **p = 0,003142** V = 0,250 **OR = 24,47; IÎ$_{95\%}$ (1,40; 426,37)**	$\chi^2_{(MC)}$ = 13,60; gl = 1, **p = 0,005499** V = 0,398 **OR = 36,56; IÎ$_{95\%}$ (1,78; 749,00)**
Infecții urinare	8 (11,4%)	12 (17,1%)	3 (18,8%)	χ^2 = 0,52; gl = 1, p = 0,4687 V = 0,061 OR = 1,57; IÎ$_{95\%}$ (0,61; 4,03)	$\chi^2_{(MC)}$ = 0,63; gl = 1, p = 0,6783 V = 0,085 OR = 1,91; IÎ$_{95\%}$ (0,48; 7,55)
COVID-19	0 (0%)	5 (7,1%)	1 (6,2%)	$\chi^2_{(MC)}$ = 5,19; gl = 1, p = 0,05209 V = 0,192	$\chi^2_{(MC)}$ = 4,43; gl = 1, p = 0,1805 V = 0,227

				OR = 11,84; IÎ$_{95\%}$ (0,64; 218,34)	OR = 13,65; IÎ$_{95\%}$ (0,53; 351,05)
Citomegalovirus	1 (1,4%)	53 (75,7%)	13 (81,2%)	χ^2 = 78,41; gl = 1, **p = 8,369e-19** V = 0,748 **OR = 141,65; IÎ$_{95\%}$ (25,74; 779,40)**	$\chi^2_{(MC)}$ = 60,88; gl = 1, **p = 9,999e-05** V = 0,841 **OR = 178,71; IÎ$_{95\%}$ (24,20; 1320,04)**
Hepatită virală	0 (0%)	22 (31,4%)	5 (31,2%)	χ^2 = 23,78; gl = 1, **p = 1,078e-06** V = 0,412 **OR = 65,41; IÎ$_{95\%}$ (3,87; 1104,28)**	$\chi^2_{(MC)}$ = 23,23; gl = 1, **p = 9,999e-05** V = 0,520 **OR = 67,43; IÎ$_{95\%}$ (3,49; 1303,25)**
Consum de alcool în timpul sarcinii	1 (1,4%)	18 (25,7%)	5 (31,2%)	χ^2 = 15,59; gl = 1, **p = 7,87e-05** V = 0,334 **OR = 16,33; IÎ$_{95\%}$ (2,98; 89,56)**	$\chi^2_{(MC)}$ = 17,85; gl = 1, **p = 0,0012** V = 0,456 **OR = 22,16; IÎ$_{95\%}$ (3,28; 149,67)**
Tabagism în timpul sarcinii	1 (1,4%)	29 (41,4%)	10 (62,5%)	χ^2 = 30,93; gl = 1, **p = 2,679e-08** V = 0,470 **OR = 32,94; IÎ$_{95\%}$ (6,11; 177,60)**	χ^2 = 43,55; gl = 1, **p = 9,999e-05** V = 0,712 **OR = 74,85; IÎ$_{95\%}$ (11,30; 495,58)**
Consum de droguri în sarcină	0 (0%)	9 (12,9%)	3 (18,8%)	$\chi^2_{(MC)}$ = 9,62; gl = 1, **p = 0,0026** V = 0,262 **OR = 21,78; IÎ$_{95\%}$ (1,24; 381,98)**	$\chi^2_{(MC)}$ = 13,60; gl = 1, **p = 0,0048** V = 0,398 **OR = 36,56; IÎ$_{95\%}$ (1,78; 749,00)**
Expunere la substanțe chimice	0 (0%)	16 (22,9%)	5 (31,2%)	$\chi^2_{(MC)}$ = 15,88; gl = 1, **p = 6,759e-05** V = 0,337 **OR = 42,69; IÎ$_{95\%}$ (2,50; 727,48)**	$\chi^2_{(MC)}$ = 23,23; gl = 1, **p = 0,0003** V = 0,520 **OR = 67,43; IÎ$_{95\%}$ (3,49; 1303,25)**
Expunere la radiații	0 (0%)	10 (14,3%)	3 (18,8%)	$\chi^2_{(MC)}$ = 8,72; gl = 1, **p = 0,003142** V = 0,250 **OR = 24,47; IÎ$_{95\%}$ (1,40; 426,37)**	$\chi^2_{(MC)}$ = 13,60; gl = 1, **p = 0,005** V = 0,398 **OR = 36,56; IÎ$_{95\%}$ (1,78; 749,00)**
Sarcină patologică	18 (25,7%)	60 (85,7%)	14 (87,5%)	χ^2 = 48,66; gl = 1, **p = 3,038e-12** V = 0,590 **OR = 16,35; IÎ$_{95\%}$ (7,04; 37,98)**	χ^2= 18,72; gl = 1, **p = 1,517e-05** V = 0,467 **OR = 16,46; IÎ$_{95\%}$ (3,89; 69,68)**
Anemie în timpul sarcinii	11 (15,7%)	41 (58,6%)	9 (56,2%)	χ^2 = 25,73; gl = 1, **p = 3,927e-07** V = 0,429 **OR = 7,28; IÎ$_{95\%}$ (3.31, 16,01)**	$\chi^2_{(MC)}$ = 11,99; gl = 1, **p = 0,0014** V = 0,373 **OR = 6,55; IÎ$_{95\%}$ (2,08; 20,63)**
Retenție dezvoltare făt	0 (0%)	7 (10%)	0 (0%)	$\chi^2_{(MC)}$ = 7,37; gl = 1, **p = 0,0153** V = 0,229 OR = 16,65; IÎ$_{95\%}$ (0,93; 297,50)	-
Iminență de naștere prematură	3 (4,3%)	28 (40%)	8 (50%)	χ^2= 23,87; gl = 1, **p = 1,033e-06** V = 0,413 **OR = 12,93; IÎ$_{95\%}$ (4,00; 41,86)**	$\chi^2_{(MC)}$ = 24,40; gl = 1, **p = 9,999e-05** V = 0,533 **OR = 19,29; IÎ$_{95\%}$ (4,59; 80,97)**
Gestoză	11 (15,7%)	12 (17,1%)	4 (25%)	χ^2 = 0,00; gl = 1, p = 1 V = 0,000 OR = 1,11; IÎ$_{95\%}$ (0,46; 2,66)	$\chi^2_{(MC)}$ = 0,78; gl = 1, p = 0,4665 V = 0,095 OR = 1,86; IÎ$_{95\%}$ (0,53; 6,49)

Anexa 6

Distribuția genotipurilor genei *MTHFR677* per formă de MCSN în comparație cu celelalte cazuri de *MCSN* și *control*

Genotipuri *MTHFR677*	**Hidrocefalie congenitală** (n = 53)	**Alte MCSN** (n = 17)	***Control*** (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***		***1 vs 2***			***1 vs 3***	
CC	23 (43,4%)	4 (23,5%)	54 (77,1%)	χ^2 = 2,21 *p* = 0,33	2,49	0,72-8,66	χ^2 = 15,81 ***p* = 0,0004**	0,23	0,10 – 0,49
CT	22 (41,5%)	10 (58,8%)	14 (20,0%)		0,50	0,16-1,51		2,84	**1,27 – 6,32**
TT	8 (15,1%)	3 (17,6%)	2 (2,9%)		0,83	0,19-3,56		6,04	**1,23 – 29,78**
	Spina bifidă (n = 8)	Alte MCSN (n = 62)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***		***1 vs 2***			***1 vs 3***	
CC	4 (50%)	23 (37,1%)	54 (77,1%)	χ^2 = 1,76 *p* = 0,41	1,70	0,39 – 7,44	χ^2 = 3,74 *p* = 0,15	0,30	0,07 – 1,32
CT	4 (50%)	28 (45,2%)	14 (20,0%)		1,21	0,28 – 5,30		4,00	0,89 – 18,01
TT	0 (0%)	11 (17,7%)	2 (2,9%)		0,26	0,01 – 4,90		1,61	0,07 – 36,46
	Meninogomielocel congenital (n = 8)	Alte MCSN (n = 62)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***		***1 vs 2***			***1 vs 3***	
CC	2 (25%)	25 (40,3%)	54 (77,1%)	χ^2 = 1,05 *p* = 0,59	0,49	0,09 – 2,64	χ^2 = 9,78 ***p* = 0,008**	0,10	0,02 – 0,54
CT	5 (62,5%)	27 (43,5%)	14 (20,0%)		2,16	0,47 – 9,85		6,67	**1,42 – 31,30**
TT	1 (12,5%)	10 (16,1%)	2 (2,9%)		0,74	0,08 – 6,72		4,86	0,39 – 60,57
	Chist cerebral (n = 17)	Alte MCSN (n = 53)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***		***1 vs 2***			***1 vs 3***	
CC	7 (41,2%)	20 (37,7%)	54 (77,1%)	χ^2 = 0,27 *p* = 0,87	1,16	0,38 – 3,52	χ^2 = 8,84 ***p* = 0,01**	0,21	0,07 – 0,63
CT	8 (47,1%)	24 (45,3%)	14 (20,0%)		1,07	0,36 – 3,21		3,56	**1,16 – 10,88**
TT	2 (11,8%)	9 (17,0%)	2 (2,9%)		0,65	0,13 – 3,36		4,53	0,59 – 34,80
	Craniostenoză (n = 12)	Alte MCSN (n = 58)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***		***1 vs 2***			***1 vs 3***	
CC	2 (16,7%)	25 (43,1%)	54 (77,1%)	χ^2 = 3,20 *p* = 0,2	0,26	0,05 – 1,31	χ^2 = 17,81 ***p* = 0,0001**	0,06	0,01 – 0,30
CT	8 (66,7%)	24 (41,4%)	14 (20,0%)		2,83	0,77 – 10,49		8,00	**2,10 – 30,42**
TT	2 (16,7%)	9 (15,5%)	2 (2,9%)		1,09	0,20 – 5,82		6,80	0,86 – 53,85
	Hipogenezie/	Alte MCSN	*Control*	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**

	hipoplazie de corp calos (n = 6)	(n = 64)	(n = 70)						
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
CC	3 (50%)	24 (37,5%)	54 (77,1%)	χ^2 = 1,28 *p* = 0,53	1,67	0,31 – 8,93	χ^2 = 2,94 *p* = 0,23	0,30	0,05 – 1,61
CT	3 (50%)	29 (45,3%)	14 (20,0%)		1,21	0,23 – 6,44		4,00	0,73 – 21,99
TT	0 (0%)	11 (17,2%)	2 (2,9%)		0,36	0,02 – 6,81		2,11	0,09 – 48,75
	Agenezie de corp calos (n = 6)	Alte MCSN (n = 64)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
CC	1 (16,7%)	26 (40,6%)	54 (77,1%)	χ^2 = 1,45 *p* = 0,48	0,29	0,03 – 2,65	χ^2 = 10,54 ***p* = 0,005**	0,06	0,01 – 0,54
CT	4 (66,7%)	28 (43,8%)	14 (20,0%)		2,57	0,44 – 15,06		8,00	**1,33 – 48,18**
TT	1 (16,7%)	10 (15,6%)	2 (2,9%)		1,08	0,11 – 10,25		6,80	0,52 – 88,54
	Atrofie cerebrală (n = 1)	Alte MCSN (n = 69)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
CC	0 (0%)	27 (39,1%)	54 (77,1%)	χ^2 = 1,20 *p* = 0,55	0,52	0,02 – 13,11	χ^2 = 3,79 *p* = 0,15	0,10	0,00 – 2,60
CT	1 (100%)	31 (44,9%)	14 (20,0%)		3,67	0,14 – 93,17		11,69	0,45 – 302,16
TT	0 (0%)	11 (15,9%)	2 (2,9%)		1,70	0,06 – 44,28		9,13	0,29 – 284,98
	Sindrom Arnold-Chiari (n = 2)	Alte MCSN (n = 63)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
CC	1 (50%)	26 (38,2%)	54 (77,1%)	χ^2 = 0,40 *p* = 0,82	1,62	0,10 – 26,96	χ^2 = 1,08 *p* = 0,58	0,30	0,02 – 5,01
CT	1 (50%)	31 (45,6%)	14 (20,0%)		1,19	0,07 – 19,88		4,00	0,24 – 67,99
TT	0 (0%)	11 (16,2%)	2 (2,9%)		1,00	0,04 – 22,24		5,48	0,20 – 146,84
	Microcefalie (n = 7)	Alte MCSN (n = 63)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
CC	3 (42,9%)	24 (38,1%)	54 (77,1%)	χ^2 = 0,06 *p* = 0,97	1,22	0,25 – 5,92	χ^2 = 4,65 *p* = 0,1	0,22	0,04 – 1,10
CT	3 (42,9%)	29 (46,0%)	14 (20,0%)		0,88	0,18 – 4,26		3,00	0,60 – 14,97
TT	1 (14,3%)	10 (15,9%)	2 (2,9%)		0,88	0,10 – 8,15		5,67	0,45 – 71,96

Notă: MGM – modelul general de moștenire.

Anexa 7

Distribuția genotipurilor genei *MTHFR1298* per formă de MCSN în comparație cu celelalte cazuri de *MCSN* și *control*

Genotipuri *MTHFR1298*	**Hidrocefalie congenitală** (n = 53)	**Alte MCSN** (n = 17)	***Control*** (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	31 (58,5%)	7 (41,2%)	59 (84,3%)	χ^2 = 1,96 *p* = 0,37	2,01	0,66 – 6,11	χ^2 = 11,72 ***p* = 0,003**	0,26	0,11 – 0,61
AC	21 (39,6%)	9 (52,9%)	9 (12,9%)		0,58	0,19 – 1,75		4,45	**1,83 – 10,84**
CC	1 (1,9%)	1 (5,9%)	2 (2,9%)		0,31	0,02 – 5,20		0,65	0,06 – 7,41
	Spina bifidă (n = 8)	Alte MCSN (n = 62)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	3 (37,5%)	35 (56,5%)	59 (84,3%)	χ^2 = 1,54 *p* = 0,46	0,46	0,10 – 2,11	χ^2 = 12,06 ***p* = 0,002**	0,11	0,02 – 0,54
AC	5 (62,5%)	25 (40,3%)	9 (12,9%)		2,47	0,54 – 11,26		11,30	**2,30 – 55,58**
CC	0 (0%)	2 (3,2%)	2 (2,9%)		1,42	0,06 – 32,24		1,61	0,07 – 36,46
	Meninogomielocel congenital (n = 8)	Alte MCSN (n = 62)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	4 (50%)	34 (54,8%)	59 (84,3%)	χ^2 = 3,03 *p* = 0,22	0,82	0,19 – 3,59	χ^2 = 5,61 *p* = 0,06	0,19	0,04 – 0,86
AC	3 (37,5%)	27 (43,5%)	9 (12,9%)		0,78	0,17 – 3,55		4,07	0,83 – 20,01
CC	1 (12,5%)	1 (1,6%)	2 (2,9%)		8,71	0,49 – 155,25		4,86	0,39 – 60,57
	Chist cerebral (n = 17)	Alte MCSN (n = 53)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	7 (41,2%)	31 (58,5%)	59 (84,3%)	χ^2 = 2,69 *p* = 0,26	0,50	0,16 – 1,51	χ^2 = 17,07 ***p* = 0,0002**	0,13	0,04 – 0,42
AC	10 (58,8%)	20 (37,7%)	9 (12,9%)		2,36	0,77 – 7,18		9,68	**2,94 – 31,92**
CC	0 (0%)	2 (3,8%)	2 (2,9%)		0,59	0,03 – 12,86		0,78	0,04 – 17,06
	Craniostenoză (n = 12)	Alte MCSN (n = 58)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	6 (50%)	32 (55,2%)	59 (84,3%)	χ^2 = 0,64 *p* = 0,73	0,81	0,23 – 2,82	χ^2 = 9,59 ***p* = 0,008**	0,19	0,05 – 0,69
AC	6 (50%)	24 (41,4%)	9 (12,9%)		1,42	0,41 – 4,93		6,78	**1,79 – 25,64**
CC	0 (0%)	2 (3,4%)	2 (2,9%)		0,90	0,04 – 20,02		1,10	0,05 – 24,22
	Hipogenezie/ hipoplazie decorp calos (n = 6)	Alte MCSN (n = 64)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	2 (33,3%)	36 (56,2%)	59 (84,3%)	χ^2 = 4,99 *p* = 0,08	0,39	0,07 – 2,28	χ^2 = 9,29 ***p* = 0,01**	0,09	0,02 – 0,57
AC	3 (50%)	27 (42,2%)	9 (12,9%)		1,37	0,26 – 7,32		6,78	**1,18 – 38,87**
CC	1 (16,7%)	1 (1,6%)	2 (2,9%)		12,60	0,68 – 233,06		6,80	0,52 – 88,54
	Agenezie de corp calos (n = 6)	Alte MCSN (n = 64)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	3 (50%)	35 (54,7%)	59 (84,3%)	χ^2 = 0,29	0,83	0,16 – 4,42	χ^2 = 5,80 *p* = 0,06	0,19	0,03 – 1,05

AC	3 (50%)	27 (42,2%)	9 (12,9%)	*p* = 0,87	1,37	0,26 – 7,32		6,78	**1,18 – 38,87**
CC	0 (0%)	2 (3,1%)	2 (2,9%)		1,92	0,08 – 44,52		2,11	0,09 – 48,75
	Atrofie cerebrală (n = 1)	Alte MCSN (n = 69)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	0 (0%)	38 (55,1%)	59 (84,3%)	χ^2 = 1,35 *p* = 0,51	0,27	0,01 – 6,93	χ^2 = 6,19 *p* = 0,05	0,06	0,00 – 1,68
AC	1 (100%)	29 (42,0%)	9 (12,9%)		4,12	0,16 – 104,71		19,42	0,74 – 512,42
CC	0 (0%)	2 (2,9%)	2 (2,9%)		9,00	0,29 – 280,85		9,13	0,29 – 284,98
	Sindrom Arnold-Chiari (n = 2)	Alte MCSN (n = 63)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	0 (0%)	38 (55,9%)	59 (84,3%)	χ^2 = 2,75 *p* = 0,25	0,16	0,01 – 3,42	χ^2 = 11,41 ***p* = 0,003**	0,04	0,00 – 0,86
AC	2 (100%)	28 (41,2%)	9 (12,9%)		7,11	0,33 – 153,67		32,37	**1,44 – 727,44**
CC	0 (0%)	2 (2,9%)	2 (2,9%)		5,32	0,20 – 142,59		5,48	0,20 – 146,84
	Microcefalie (n = 7)	Alte MCSN (n = 63)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	3 (42,9%)	35 (55,6%)	59 (84,3%)	χ^2 = 3,74 *p* = 0,15	0,60	0,12 – 2,91	χ^2 = 7,16 ***p* = 0,03**	0,14	0,03 – 0,71
AC	3 (42,9%)	27 (42,9%)	9 (12,9%)		1,00	0,21 – 4,85		5,08	0,97 – 26,54
CC	1 (14,3%)	1 (1,6%)	2 (2,9%)		10,33	0,57 – 187,00		5,67	0,45 – 71,96

Notă: MGM – modelul general de moștenire.

Anexa 8

Distribuția genotipurilor genei *MTR2756* per formă de MCSN în comparație cu celelalte cazuri de MCSN și Control

Genotipuri *MTR2756*	**Hidrocefalie congenitală** (n = 53)	**Alte MCSN** (n = 17)	***Control*** (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	29 (54,7%)	10 (58,8%)	57 (81,4%)	χ^2 = 0,96 *p* = 0,62	0,85	0,28 – 2,56	χ^2 = 10,42 ***p* = 0,005**	0,28	0,12 – 0,62
AG	23 (43,4%)	6 (35,3%)	12 (17,1%)		1,41	0,45 – 4,37		3,71	**1,62 – 8,46**
GG	1 (1,9%)	1 (5,9%)	1 (1,4%)		0,31	0,02 – 5,20		1,33	0,08 – 21,71
	Spina bifidă (n = 8)	Alte MCSN (n = 62)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	5 (62,5%)	34 (54,8%)	57 (81,4%)	χ^2 = 0,37 *p* = 0,83	1,37	0,30 – 6,25	χ^2 = 1,99 *p* = 0,37	0,38	0,08 – 1,80
AG	3 (37,5%)	26 (41,9%)	12 (17,1%)		0,83	0,18 – 3,79		2,90	0,61 – 13,81
GG	0 (0%)	2 (3,2%)	1 (1,4%)		1,42	0,06 – 32,24		2,73	0,10 – 72,36
	Meninogomielocel congenital (n = 8)	Alte MCSN (n = 62)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	4 (50%)	35 (56,5%)	57 (81,4%)	χ^2 = 0,47 *p* = 0,79	0,77	0,18 – 3,37	χ^2 = 4,80 *p* = 0,09	0,23	0,05 – 1,03
AG	4 (50%)	25 (40,3%)	12 (17,1%)		1,48	0,34 – 6,47		4,83	**1,06 – 22,08**
GG	0 (0%)	2 (3,2%)	1 (1,4%)		1,42	0,06 – 32,24		2,73	0,10 – 72,36
	Chist cerebral (n = 17)	Alte MCSN (n = 53)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	8 (47,1%)	31 (58,5%)	57 (81,4%)	χ^2 = 6,54 ***p* = 0,04**	0,63	0,21 – 1,89	χ^2 = 10,02 ***p* = 0,007**	0,20	0,07 – 0,63
AG	7 (41,2%)	22 (41,5%)	12 (17,1%)		0,99	0,33 – 2,99		3,38	**1,07 – 10,67**
GG	2 (11,8%)	0 (0%)	1 (1,4%)		17,26	0,79 – 378,75		9,20	0,78 – 108,18
	Craniostenoză (n = 12)	Alte MCSN (n = 58)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	8 (66,7%)	31 (53,4%)	57 (81,4%)	χ^2 = 0,95 *p* = 0,62	1,74	0,47 – 6,43	χ^2 = 1,83 *p* = 0,4	0,46	0,12 – 1,75
AG	4 (33,3%)	25 (43,1%)	12 (17,1%)		0,66	0,18 – 2,44		2,42	0,63 – 9,34
GG	0 (0%)	2 (3,4%)	1 (1,4%)		0,90	0,04 – 20,02		1,85	0,07 – 48,13
	Hipogenezie/ hipoplazie de corp calos (n = 6)	Alte MCSN (n = 64)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	4 (66,7%)	35 (54,7%)	57 (81,4%)	χ^2 = 0,43 *p* = 0,81	1,66	0,28 – 9,70	χ^2 = 1,02 *p* = 0,48	0,46	0,08 – 2,76
AG	2 (33,3%)	27 (42,2%)	12 (17,1%)		0,69	0,12 – 4,02		2,42	0,40 – 14,73
GG	0 (0%)	2 (3,1%)	1 (1,4%)		1,92	0,08 – 44,52		3,56	0,13 – 96,64
	Agenezie de corp calos (n = 6)	Alte MCSN (n = 64)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	3 (50%)	36 (56,3%)	57 (81,4%)	χ^2 = 4,52	0,78	0,15 – 4,15	χ^2 = 6,35	0,23	0,04 – 1,26

AG	2 (33,3%)	27 (42,2%)	12 (17,1%)	p = 0,1	0,69	0,12 – 4,02	**p = 0,04**	2,42	0,40 – 14,73
GG	1 (16,7%)	1 (1,6%)	1 (1,4%)		12,60	0,68 – 233,06		13,80	0,75 – 255,03
	Atrofie cerebrală (n = 1)	Alte MCSN (n = 69)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	0 (0%)	39 (56,5%)	57 (81,4%)	χ^2 = 1,43 p = 0,49	0,26	0,01 – 6,54	χ^2 = 4,53 p = 0,1	0,08	0,00 – 2,03
AG	1 (100%)	28 (40,6%)	12 (17,1%)		4,37	0,17 – 111,10		14,04	0,54 – 365,1
GG	0 (0%)	2 (2,9%)	1 (1,4%)		9,00	0,29 – 280,85		15,44	0,43 – 557,48
	Sindrom Arnold-Chiari (n = 2)	Alte MCSN (n = 63)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	2 (100%)	37 (54,4%)	57 (81,4%)	χ^2 = 1,64 p = 0,44	4,20	0,19 – 90,76	χ^2 = 0,45 p = 0,8	1,17	0,05 – 25,90
AG	0 (0%)	29 (42,6%)	12 (17,1%)		0,27	0,01 – 5,79		0,94	0,04 – 20,72
GG	0 (0%)	2 (2,9%)	1 (1,4%)		5,32	0,20 – 142,59		9,27	0,30 – 289,11
	Microcefalie (n = 7)	Alte MCSN (n = 63)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	4 (57,1%)	35 (55,6%)	57 (81,4%)	χ^2 = 0,23 p = 0,89	1,07	0,22 – 5,16	χ^2 = 2,73 p = 0,25	0,30	0,06 – 1,53
AG	3 (42,9%)	26 (41,3%)	12 (17,1%)		1,07	0,22 – 5,18		3,63	0,72 – 18,33
GG	0 (0%)	2 (3,2%)	1 (1,4%)		1,64	0,07 – 37,50		3,09	0,12 – 82,76

Notă: MGM – modelul general de moștenire.

Anexa 9

Distribuția genotipurilor genei *MTRR66* per formă de MCSN în comparație cu celelalte cazuri de *MCSN* și *control*

Genotipuri *MTRR66*	**Hidrocefalie congenitală** (n = 53)	**Alte MCSN** (n = 17)	***Control*** (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	7 (13,2%)	4 (23,5%)	28 (40,0%)	χ^2 = 1,88 *p* = 0,39	0,49	0,13 – 1,95	χ^2 = 10,75 ***p*** = 0,005	0,23	0,09 – 0,58
AG	28 (52,8%)	6 (35,3%)	27 (38,6%)		2,05	0,66 – 6,37		1,78	0,87 – 3,67
GG	18 (34,0%)	7 (41,2%)	15 (21,4%)		0,73	0,24 – 2,25		1,89	0,84 – 4,22
	Spina bifidă (n = 8)	Alte MCSN (n = 62)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	0 (0%)	11 (17,7%)	28 (40,0%)	χ^2 = 1,79 *p* = 0,41	0,26	0,01 – 4,90	χ^2 = 5,01 *p* = 0,08	0,09	0,00 – 1,58
AG	5 (62,5%)	29 (46,8%)	27 (38,6%)		1,90	0,42 – 8,64		2,65	0,59 – 12,02
GG	3 (37,5%)	22 (35,5%)	15 (21,4%)		1,09	0,24 – 5,00		2,20	0,47 – 10,27
	Meninogomielocel congenital (n = 8)	Alte MCSN (n = 62)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	2 (25%)	9 (14,5%)	28 (40,0%)	χ^2 = 0,73 *p* = 0,69	1,96	0,34 – 11,29	χ^2 = 1,23 ***p*** = 0,54	0,50	0,09 – 2,66
AG	3 (37,5%)	31 (50%)	27 (38,6%)		0,60	0,13 – 2,73		0,96	0,21 – 4,33
GG	3 (37,5%)	22 (35,5%)	15 (21,4%)		1,09	0,24 – 5,00		2,20	0,47 – 10,27
	Chist cerebral (n = 17)	Alte MCSN (n = 53)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	1 (5,9%)	10 (18,9%)	28 (40,0%)	χ^2 = 1,87 *p* = 0,39	0,27	0,03 – 2,27	χ^2 = 7,19 ***p*** = 0,03	0,09	0,01 – 0,75
AG	10 (58,8%)	24 (45,3%)	27 (38,6%)		1,73	0,57 – 5,22		2,28	0,77 – 6,69
GG	6 (35,3%)	19 (35,8%)	15 (21,4%)		0,98	0,31 – 3,06		2,00	0,64 – 6,30
	Craniostenoză (n = 12)	Alte MCSN (n = 58)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	2 (16,7%)	9 (15,5%)	28 (40,0%)	χ^2 = 1,53 *p* = 0,47	1,09	0,20 – 5,82	χ^2 = 4,86 ***p*** = 0,09	0,30	0,06 – 1,47
AG	4 (33,3%)	30 (51,7%)	27 (38,6%)		0,47	0,13 – 1,72		0,80	0,22 – 2,90
GG	6 (50%)	19 (32,8%)	15 (21,4%)		2,05	0,58 – 7,22		3,67	1,03 – 13,02
	Hipogenezie/ hipoplazie de corp calos (n = 6)	Alte MCSN (n = 64)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	3 (50%)	8 (12,5%)	28 (40,0%)	χ^2 = 5,89 *p* = 0,05	7,00	**1,20 – 40,83**	χ^2 = 0,23 *p* = 0,89	1,50	0,28 – 7,97
AG	2 (33,3%)	32 (50%)	27 (38,6%)		0,50	0,09 – 2,93		0,80	0,14 – 4,65
GG	1 (16,7%)	24 (37,5%)	15 (21,4%)		0,33	0,04 – 3,03		0,73	0,08 – 6,76
	Agenezie de corp calos (n = 6)	Alte MCSN (n = 64)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	1 (16,7%)	10 (15,6%)	28 (40,0%)	χ^2 = 0,02	1,08	0,11 – 10,25	χ^2 = 1,32 ***p*** = 0,52	0,30	0,03 – 2,71

AG	3 (50%)	31 (48,4%)	27 (38,6%)	*p* = 0,99	1,06	0,20 – 5,68		1,59	0,30 – 8,47
GG	2 (33,3%)	23 (35,9%)	15 (21,4%)		0,89	0,15 – 5,25		1,83	0,31 – 10,99
	Atrofie cerebrală (n = 1)	Alte MCSN (n = 69)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	0 (0%)	11 (15,9%)	28 (40,0%)	χ^2 = 1,07 *p* = 0,58	1,70	0,06 – 44,28	χ^2 = 1,56 *p* = 0,46	0,50	0,02 – 12,64
AG	1 (100%)	33 (47,8%)	27 (38,6%)		3,27	0,13 – 83,03		4,75	0,19 – 120,70
GG	0 (0%)	25 (36,2%)	15 (21,4%)		0,58	0,02 – 14,82		1,19	0,05 – 30,78
	Sindrom Arnold-Chiari (n = 2)	Alte MCSN (n = 63)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	0 (0%)	11 (16,2%)	28 (40,0%)	χ^2 = 2,18 *p* = 0,34	1,00	0,04 – 22,24	χ^2 = 3,05 ***p*** = 0,22	0,30	0,01 – 6,45
AG	2 (100%)	32 (47,1%)	27 (38,6%)		5,62	0,26 – 121,33		7,91	0,37 – 171,01
GG	0 (0%)	25 (36,8%)	15 (21,4%)		0,34	0,02 – 7,39		0,72	0,03 – 15,71
	Microcefalie (n = 7)	Alte MCSN (n = 63)	*Control* (n = 70)	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**	**MGM**	**OR**	**IÎ$_{95\%}$**
	1	***2***	***3***	***1 vs 2***			***1 vs 3***		
AA	5 (71,4%)	6 (9,5%)	28 (40,0%)	χ^2 = 18,25 ***p* = 0,0001**	23,75	**3,76 – 150,00**	χ^2 = 2,66 *p* = 0,27	3,75	0,68 – 20,70
AG	1 (14,3%)	33 (52,4%)	27 (38,6%)		0,15	0,02 – 1,33		0,27	0,03 – 2,33
GG	1 (14,3%)	24 (38,1%)	15 (21,4%)		0,27	0,03 – 2,39		0,61	0,07 – 5,48

Notă: MGM – modelul general de moștenire.

Anexa 10

Estimări de risc pentru factorii genetici (genotipul matern al genelor ciclului folat) per subtip de MCSN

Tipul MCSN	MCSN versus *control*			
	OR	**PAF, %**	**RA (abs, % din riscul la expuși)**	**RR**
Hidrocefalie cerebrală				
MTHFR677CC	0.22716 (IÎ$_{95\%}$ 0.10–0.49)	-147.642	-0.353 (-118.3%)	0.46 (IÎ$_{95\%}$ 0.31–0.68)
MTHFR 677CT	2.83871 **(IÎ$_{95\%}$ 1.27–6.32)**	26.88679	0.255 (41.7%)	1.72 **(IÎ$_{95\%}$ 1.17–2.52)**
MTHFR 677TT	6.044444 **(IÎ$_{95\%}$ 1.23–29.78)**	12.59711	0.402 (50.2%)	2.01 **(IÎ$_{95\%}$ 1.37–2.95)**
MTHFR 677CT&TT	4.402173913 **(IÎ$_{95\%}$ 2.02–9.59)**	43.74563242	0.353 (54.2%)	2.18 **(IÎ$_{95\%}$ 1.46–3.26)**
MTHFR 1298AA	0.262712 (IÎ$_{95\%}$ 0.11–0.61)	-164.151	-0.322 (-93.5%)	0.52 (IÎ$_{95\%}$ 0.36–0.75)
MTHFR 1298AC	4.447917 **(IÎ$_{95\%}$ 1.83–10.84)**	30.71451	0.356 (50.8%)	2.03 **(IÎ$_{95\%}$ 1.41–2.93)**
MTHFR 1298CC	0.653846 (IÎ$_{95\%}$ 0.06–7.41)	-0.99889	-0.100 (-30.0%)	0.77 (IÎ$_{95\%}$ 0.15–3.86)
MTHFR1298AC&CC	3.80645161290323 **(IÎ$_{95\%}$ 1.64–8.86)**	30.6044131755676	0.322 (48.3%)	1.94 **(IÎ$_{95\%}$ 1.33–2.81)**
***MTR2756*AA**	0.275585 (IÎ$_{95\%}$ 0.12–0.62)	-143.832	-0.311 (-92.4%)	0.52 (IÎ$_{95\%}$ 0.36–0.76)
***MTR2756*AG**	3.705556 **(IÎ$_{95\%}$ 1.62–8.46)**	31.6851	0.316 (48.1%)	1.93 **(IÎ$_{95\%}$ 1.32–2.81)**
***MTR2756*GG**	1.326923 (IÎ$_{95\%}$ 0.08–21.71)	0.464862	0.070 (14.0%)	1.16 (IÎ$_{95\%}$ 0.29–4.72)
MTR2756AG&GG	3.62864721485411 **(IÎ$_{95\%}$ 1.61–8.15)**	32.8037073816617	0.311 (48.0%)	1.92 **(IÎ$_{95\%}$ 1.32–2.81)**
***MTRR66*AA**	0.228261 (IÎ$_{95\%}$ 0.09–0.58)	-44.6541	-0.323 (-161.4%)	0.38 (IÎ$_{95\%}$ 0.19–0.76)
***MTRR66*AG**	1.783704 (IÎ$_{95\%}$ 0.87–3.67)	23.21194	0.141 (27.8%)	1.38 (IÎ$_{95\%}$ 0.92–2.08)
***MTRR66*GG**	1.885714 (IÎ$_{95\%}$ 0.84–4.22)	15.95197	0.157 (28.7%)	1.40 (IÎ$_{95\%}$ 0.94–2.10)
MTRR66AG&GG	4.38095238095238 **(IÎ$_{95\%}$ 1.73–11.08)**	66.9811320754717	0.323 (61.7%)	2.61 **(IÎ$_{95\%}$ 1.31–5.22)**
Spină bifidă				
MTHFR677CC	0.296296 (IÎ$_{95\%}$ 0.07–1.32)	-118.75	-0.131 (-190.0%)	0.34 (IÎ$_{95\%}$ 0.09–1.25)
MTHFR 677CT	4 (IÎ$_{95\%}$ 0.89–18.01)	37.5	0.156 (70.0%)	3.33 (IÎ$_{95\%}$ 0.93–12.01)
MTHFR 677TT*	1.61176470588235 (IÎ$_{95\%}$ 0.07–36.46)	0	0.056 (33.8%)	1.51 (IÎ$_{95\%}$ 0.11–20.50)
MTHFR 677CT&TT	3.375 (IÎ$_{95\%}$ 0.76–15.04)	35.1851851851852	0.131 (65.5%)	2.90 (IÎ$_{95\%}$ 0.80–10.53)
MTHFR 1298AA	0.111864 (IÎ$_{95\%}$ 0.02–0.54)	-297.727	-0.264 (-545.8%)	0.15 (IÎ$_{95\%}$ 0.04–0.58)
MTHFR 1298AC	11.2963 **(IÎ$_{95\%}$ 2.30–55.58)**	56.96721	0.310 (86.9%)	7.62 **(IÎ$_{95\%}$ 2.06–28.22)**
MTHFR 1298CC*	1.61176470588235 (IÎ$_{95\%}$ 0.07–36.46)	0	0.056 (33.8%)	1.51 (IÎ$_{95\%}$ 0.11–20.50)
MTHFR1298AC&CC	8.93939393939394 **(IÎ$_{95\%}$ 1.86–42.95)**	55.5084745762712	0.264 (84.5%)	6.46 **(IÎ$_{95\%}$ 1.72–24.22)**
***MTR2756*AA**	0.380117 (IÎ$_{95\%}$ 0.08–1.80)	-101.923	-0.107 (-132.5%)	0.43 (IÎ$_{95\%}$ 0.11–1.61)
***MTR2756*AG**	2.9	24.56897	0.121 (60.3%)	2.52

	(IÎ$_{95\%}$ 0.61–13.81)			(IÎ$_{95\%}$ 0.68–9.40)
MTR2756*GG	2.72549019607843 (IÎ$_{95\%}$ 0.10–72.36)	0	0.141 (56.4%)	2.29 (IÎ$_{95\%}$ 0.19–27.48)
MTR2756AG&GG	2.63076923076923 (IÎ$_{95\%}$ 0.56–12.43)	23.245614 0350877	0.107 (57.0%)	2.33 (IÎ$_{95\%}$ 0.62–8.72)
MTRR66*AA	0.087719298245614 (IÎ$_{95\%}$ 0.00–1.58)	0	-0.149 (-866.7%)	0.10 (IÎ$_{95\%}$ 0.01–1.73)
***MTRR66*AG**	2.654321 (IÎ$_{95\%}$ 0.59–12.02)	38.95349	0.091 (58.3%)	2.40 (IÎ$_{95\%}$ 0.62–9.32)
***MTRR66*GG**	2.2 (IÎ$_{95\%}$ 0.47–10.27)	20.45455	0.083 (50.0%)	2.00 (IÎ$_{95\%}$ 0.53–7.57)
MTRR66AG&GG*	11.4 (IÎ$_{95\%}$ 0.63–205.42)	91.228070 1754386	0.149 (89.7%)	9.67 (IÎ$_{95\%}$ 0.58–161.46)
Meningomielocel congenital				
MTHFR677CC	0.098765 (IÎ$_{95\%}$ 0.02–0.54)	-228.125	-0.237 (-663.6%)	0.13 (IÎ$_{95\%}$ 0.03–0.60)
MTHFR 677CT	6.666667 **(IÎ$_{95\%}$ 1.42–31.30)**	53.125	0.212 (80.7%)	5.18 **(IÎ$_{95\%}$ 1.36–19.66)**
MTHFR 677TT	4.857143 (IÎ$_{95\%}$ 0.39–60.57)	9.926471	0.240 (72.0%)	3.57 (IÎ$_{95\%}$ 0.62–20.53)
MTHFR 677CT&TT	10.125 **(IÎ$_{95\%}$ 1.86–55.14)**	67.592592 59	0.237 (86.9%)	7.64 **(IÎ$_{95\%}$ 1.67–35.00)**
MTHFR 1298AA	0.186441 (IÎ$_{95\%}$ 0.04–0.86)	-218.182	-0.203 (-320.0%)	0.24 (IÎ$_{95\%}$ 0.07–0.84)
MTHFR 1298AC	4.066667 (IÎ$_{95\%}$ 0.83–20.01)	28.27869	0.174 (69.7%)	3.30 (IÎ$_{95\%}$ 0.91–12.02)
MTHFR 1298CC	4.857143 (IÎ$_{95\%}$ 0.39–60.57)	9.926471	0.240 (72.0%)	3.57 (IÎ$_{95\%}$ 0.62–20.53)
MTHFR1298AC&CC	5.363636364 **(IÎ$_{95\%}$ 1.16–24.72)**	40.677966 1	0.203 (76.2%)	4.20 **(IÎ$_{95\%}$ 1.18–14.90)**
***MTR2756*AA**	0.22807 (IÎ$_{95\%}$ 0.05–1.03)	-169.231	-0.170 (-258.8%)	0.28 (IÎ$_{95\%}$ 0.08–1.00)
***MTR2756*AG**	4.833333 **(IÎ$_{95\%}$ 1.06–22.08)**	39.65517	0.185 (74.2%)	3.88 **(IÎ$_{95\%}$ 1.09–13.83)**
MTR2756*GG	2.725490196 (IÎ$_{95\%}$ 0.10–72.36)	0	0.141 (56.4%)	2.29 (IÎ$_{95\%}$ 0.19–27.48)
MTR2756AG&GG	4.384615385 (IÎ$_{95\%}$ 0.97–19.87)	38.596491 23	0.170 (72.1%)	3.59 (IÎ$_{95\%}$ 1.00–12.87)
***MTRR66*AA**	0.5 (IÎ$_{95\%}$ 0.09–2.66)	-25	-0.058 (-87.5%)	0.53 (IÎ$_{95\%}$ 0.12–2.47)
***MTRR66*AG**	0.955556 (IÎ$_{95\%}$ 0.21–4.33)	-1.74419	-0.004 (-4.2%)	0.96 (IÎ$_{95\%}$ 0.25–3.73)
***MTRR66*GG**	2.2 (IÎ$_{95\%}$ 0.47–10.27)	20.45455	0.083 (50.0%)	2.00 (IÎ$_{95\%}$ 0.53–7.57)
MTRR66AG&GG	2 (IÎ$_{95\%}$ 0.38–10.63)	37.5	0.058 (46.7%)	1.88 (IÎ$_{95\%}$ 0.40–8.69)
Chist cerebral				
MTHFR677CC	0.207407 (IÎ$_{95\%}$ 0.07–0.63)	-157.353	-0.270 (-235.2%)	0.30 (IÎ$_{95\%}$ 0.13–0.70)
MTHFR 677CT	3.555556 **(IÎ$_{95\%}$ 1.16–10.88)**	33.82353	0.225 (61.9%)	2.63 **(IÎ$_{95\%}$ 1.16–5.97)**
MTHFR 677TT	4.533333 (IÎ$_{95\%}$ 0.59–34.80)	9.16955	0.319 (63.9%)	2.77 (IÎ$_{95\%}$ 0.94–8.16)
MTHFR 677CT&TT	4.821428571 **(IÎ$_{95\%}$ 1.58–14.71)**	46.623093 68	0.270 (70.2%)	3.35 **(IÎ$_{95\%}$ 1.43–7.84)**
MTHFR 1298AA	0.130508 (IÎ$_{95\%}$ 0.04–0.42)	-274.332	-0.370 (-349.0%)	0.22 (IÎ$_{95\%}$ 0.10–0.51)
MTHFR 1298AC	9.682539683 **(IÎ$_{95\%}$ 2.94–31.92)**	52.748312 44	0.423 (80.4%)	5.11 **(IÎ$_{95\%}$ 2.25–11.62)**
MTHFR 1298CC*	0.782857143 (IÎ$_{95\%}$ 0.04–17.06)	0	-0.037 (-22.1%)	0.82 (IÎ$_{95\%}$ 0.06–10.64)

MTHFR1298AC&CC	7.662337662 **(IÎ$_{95\%}$ 2.40–24.46)**	51.14656032	0.370 (77.7%)	4.49 **(IÎ$_{95\%}$ 1.95–10.31)**
***MTR2756*AA**	0.202729 (IÎ$_{95\%}$ 0.07–0.63)	-185.068	-0.286 (-232.4%)	0.30 (IÎ$_{95\%}$ 0.13–0.68)
***MTR2756*AG**	3.383333 **(IÎ$_{95\%}$ 1.07–10.67)**	29.00609	0.221 (60.1%)	2.51 **(IÎ$_{95\%}$ 1.10–5.69)**
***MTR2756*GG**	9.2 (IÎ$_{95\%}$ 0.78–108.18)	10.48593	0.488 (73.2%)	3.73 **(IÎ$_{95\%}$ 1.48–9.39)**
MTR2756AG&GG	4.932692308 **(IÎ$_{95\%}$ 1.60–15.22)**	42.20846233	0.286 (69.9%)	3.32 **(IÎ$_{95\%}$ 1.46–7.55)**
***MTRR66*AA**	0.09375 (IÎ$_{95\%}$ 0.01–0.75)	-56.8627	-0.241 (-700.0%)	0.13 (IÎ$_{95\%}$ 0.02–0.90)
***MTRR66*AG**	2.275132 (IÎ$_{95\%}$ 0.77–6.69)	32.96854	0.130 (48.2%)	1.93 (IÎ$_{95\%}$ 0.81–4.60)
***MTRR66*GG**	2 (IÎ$_{95\%}$ 0.64–6.30)	17.64706	0.119 (41.7%)	1.71 (IÎ$_{95\%}$ 0.72–4.07)
MTRR66AG&GG	10.66666667 **(IÎ$_{95\%}$ 1.34–85.05)**	85.29411765	0.241 (87.5%)	8.00 **(IÎ$_{95\%}$ 1.12–57.40)**
Craniostenoză				
MTHFR677CC	0.059259 (IÎ$_{95\%}$ 0.01–0.30)	-264.583	-0.349 (-976.9%)	0.09 (IÎ$_{95\%}$ 0.02–0.39)
MTHFR 677CT	8 **(IÎ$_{95\%}$ 2.10–30.42)**	58.33333	0.297 (81.7%)	5.45 **(IÎ$_{95\%}$ 1.82–16.33)**
MTHFR 677TT	6.8 (IÎ$_{95\%}$ 0.86–53.85)	14.21569	0.372 (74.4%)	3.90 **(IÎ$_{95\%}$ 1.25–12.17)**
MTHFR 677CT&TT	16.875 **(IÎ$_{95\%}$ 3.35–85.06)**	78.39506173	0.349 (90.7%)	10.77 **(IÎ$_{95\%}$ 2.54–45.69)**
MTHFR 1298AA	0.186441 (IÎ$_{95\%}$ 0.05–0.69)	-218.182	-0.261 (-282.4%)	0.26 (IÎ$_{95\%}$ 0.10–0.71)
MTHFR 1298AC	6.777778 **(IÎ$_{95\%}$ 1.79–25.64)**	42.62295	0.310 (77.6%)	4.47 **(IÎ$_{95\%}$ 1.67–11.94)**
MTHFR 1298CC*	1.096 (IÎ$_{95\%}$ 0.05–24.22)	0	0.012 (7.4%)	1.08 (IÎ$_{95\%}$ 0.08–14.27)
MTHFR1298AC&CC	5.363636364 **(IÎ$_{95\%}$ 1.46–19.72)**	40.6779661	0.261 (73.8%)	3.82 **(IÎ$_{95\%}$ 1.41–10.37)**
***MTR2756*AA**	0.45614 (IÎ$_{95\%}$ 0.12–1.75)	-79.4872	-0.112 (-91.2%)	0.52 (IÎ$_{95\%}$ 0.18–1.53)
***MTR2756*AG**	2.416667 (IÎ$_{95\%}$ 0.63–9.34)	19.54023	0.129 (51.5%)	2.06 (IÎ$_{95\%}$ 0.71–6.01)
MTR2756*GG	1.853333333 (IÎ$_{95\%}$ 0.07–48.13)	0	0.098 (39.0%)	1.64 (IÎ$_{95\%}$ 0.14–19.08)
MTR2756AG&GG	2.192307692 (IÎ$_{95\%}$ 0.57–8.40)	18.12865497	0.112 (47.7%)	1.91 (IÎ$_{95\%}$ 0.65–5.60)
***MTRR66*AA**	0.3 (IÎ$_{95\%}$ 0.06–1.47)	-38.8889	-0.126 (-188.5%)	0.35 (IÎ$_{95\%}$ 0.08–1.48)
***MTRR66*AG**	0.796296 (IÎ$_{95\%}$ 0.22–2.90)	-8.52713	-0.028 (-21.6%)	0.82 (IÎ$_{95\%}$ 0.27–2.51)
***MTRR66*GG**	3.666667 **(IÎ$_{95\%}$ 1.03–13.02)**	36.36364	0.187 (65.6%)	2.90 **(IÎ$_{95\%}$ 1.05–8.03)**
MTRR66AG&GG	3.333333333 (IÎ$_{95\%}$ 0.68–16.37)	58.33333333	0.126 (65.3%)	2.88 (IÎ$_{95\%}$ 0.68–12.30)
Hipogenezie/hipoplazia corpului calos				
MTHFR677CC	0.296296 (IÎ$_{95\%}$ 0.05–1.61)	-118.75	-0.105 (-200.0%)	0.33 (IÎ$_{95\%}$ 0.07–1.51)
MTHFR 677CT	4 (IÎ$_{95\%}$ 0.73–21.99)	37.5	0.126 (71.2%)	3.47 (IÎ$_{95\%}$ 0.77–15.66)
MTHFR 677TT*	2.107692308 (IÎ$_{95\%}$ 0.09–48.75)	0	0.080 (48.0%)	1.92 (IÎ$_{95\%}$ 0.14–26.81)
MTHFR 677CT&TT	3.375 (IÎ$_{95\%}$ 0.62–18.38)	35.18518519	0.105 (66.7%)	3.00 (IÎ$_{95\%}$ 0.66–13.63)
MTHFR 1298AA	0.09322	-324.242	-0.234 (-713.3%)	0.12

	(IÎ$_{95\%}$ 0.02–0.57)			(IÎ$_{95\%}$ 0.02–0.61)
MTHFR 1298AC	6.777778 **(IÎ$_{95\%}$ 1.18–38.87)**	42.62295	0.203 (81.3%)	5.33 **(IÎ$_{95\%}$ 1.22–23.35)**
MTHFR 1298CC	6.8 (IÎ$_{95\%}$ 0.52–88.54)	14.21569	0.265 (79.5%)	4.87 (IÎ$_{95\%}$ 0.80–29.74)
MTHFR1298AC&CC	10.72727273 **(IÎ$_{95\%}$ 1.75–65.90)**	60.4519774	0.234 (87.7%)	8.13 **(IÎ$_{95\%}$ 1.64–40.31)**
***MTR2756*AA**	0.45614 (IÎ$_{95\%}$ 0.08–2.76)	-79.4872	-0.068 (-103.3%)	0.49 (IÎ$_{95\%}$ 0.10–2.44)
***MTR2756*AG**	2.416667 (IÎ$_{95\%}$ 0.40–14.73)	19.54023	0.078 (54.8%)	2.21 (IÎ$_{95\%}$ 0.45–10.92)
MTR2756*GG	3.564102564 (IÎ$_{95\%}$ 0.13–96.64)	0	0.164 (65.8%)	2.92 (IÎ$_{95\%}$ 0.24–35.99)
MTR2756AG&GG	2.192307692 (IÎ$_{95\%}$ 0.36–13.28)	18.12865497	0.068 (50.8%)	2.03 (IÎ$_{95\%}$ 0.41–10.08)
***MTRR66*AA**	1.5 (IÎ$_{95\%}$ 0.28–7.97)	16.66667	0.030 (31.1%)	1.45 (IÎ$_{95\%}$ 0.31–6.73)
***MTRR66*AG**	0.796296 (IÎ$_{95\%}$ 0.14–4.65)	-8.52713	-0.016 (-23.4%)	0.81 (IÎ$_{95\%}$ 0.16–4.15)
***MTRR66*GG**	0.733333 (IÎ$_{95\%}$ 0.08–6.76)	-6.06061	-0.021 (-33.3%)	0.75 (IÎ$_{95\%}$ 0.09–5.97)
MTRR66AG&GG	0.666666667 (IÎ$_{95\%}$ 0.13–3.54)	-25	-0.030 (-45.2%)	0.69 (IÎ$_{95\%}$ 0.15–3.19)
Agenezia corpului calos				
MTHFR677CC	0.059259 (IÎ$_{95\%}$ 0.01–0.54)	-264.583	-0.220 (-1209.5%)	0.08 (IÎ$_{95\%}$ 0.01–0.62)
MTHFR 677CT	8 **(IÎ$_{95\%}$ 1.33–48.18)**	58.33333	0.188 (84.5%)	6.44 **(IÎ$_{95\%}$ 1.28–32.33)**
MTHFR 677TT	6.8 (IÎ$_{95\%}$ 0.52–88.54)	14.21569	0.265 (79.5%)	4.87 (IÎ$_{95\%}$ 0.80–29.74)
MTHFR 677CT&TT	16.875 **(IÎ$_{95\%}$ 1.84–155.12)**	78.39506173	0.220 (92.4%)	13.10 **(IÎ$_{95\%}$ 1.62–105.60)**
MTHFR 1298AA	0.186441 (IÎ$_{95\%}$ 0.03–1.05)	-218.182	-0.166 (-342.9%)	0.23 (IÎ$_{95\%}$ 0.05–1.00)
MTHFR 1298AC	6.777778 **(IÎ$_{95\%}$ 1.18–38.87)**	42.62295	0.203 (81.3%)	5.33 **(IÎ$_{95\%}$ 1.22–23.35)**
MTHFR 1298CC*	2.107692308 (IÎ$_{95\%}$ 0.09–48.75)	0	0.080 (48.0%)	1.92 (IÎ$_{95\%}$ 0.14–26.81)
MTHFR1298AC&CC	5.363636364 (IÎ$_{95\%}$ 0.96–30.10)	40.6779661	0.166 (77.4%)	4.43 (IÎ$_{95\%}$ 1.00–19.68)
***MTR2756*AA**	0.22807 (IÎ$_{95\%}$ 0.04–1.26)	-169.231	-0.138 (-275.0%)	0.27 (IÎ$_{95\%}$ 0.06–1.20)
***MTR2756*AG**	2.416667 (IÎ$_{95\%}$ 0.40–14.73)	19.54023	0.078 (54.8%)	2.21 (IÎ$_{95\%}$ 0.45–10.92)
***MTR2756*GG**	13.8 (IÎ$_{95\%}$ 0.75–255.03)	15.45894	0.432 (86.5%)	7.40 **(IÎ$_{95\%}$ 1.46–37.54)**
MTR2756AG&GG	4.384615385 (IÎ$_{95\%}$ 0.79–24.24)	38.59649123	0.138 (73.3%)	3.75 (IÎ$_{95\%}$ 0.83–16.85)
***MTRR66*AA**	0.3 (IÎ$_{95\%}$ 0.03–2.71)	-38.8889	-0.072 (-208.5%)	0.32 (IÎ$_{95\%}$ 0.04–2.64)
***MTRR66*AG**	1.592593 (IÎ$_{95\%}$ 0.30–8.47)	18.60465	0.035 (34.8%)	1.53 (IÎ$_{95\%}$ 0.33–7.10)
***MTRR66*GG**	1.833333 (IÎ$_{95\%}$ 0.31–10.99)	15.15152	0.050 (42.4%)	1.74 (IÎ$_{95\%}$ 0.35–8.68)
MTRR66AG&GG	3.333333333 (IÎ$_{95\%}$ 0.37–30.07)	58.33333333	0.072 (67.6%)	3.09 (IÎ$_{95\%}$ 0.38–25.11)
Atrofie cerebrală				
MTHFR677CC*	0.100917431 (IÎ$_{95\%}$ 0.00–2.60)	0	-0.074 (-816.7%)	0.11 (IÎ$_{95\%}$ 0.00–2.56)
MTHFR 677CT*	11.68965517 (IÎ$_{95\%}$ 0.45–302.16)	91.44542773	0.085 (90.6%)	10.69 (IÎ$_{95\%}$ 0.46–249.97)

MTHFR 677TT*	9.133333333 (IÎ$_{95\%}$ 0.29–284.98)	0	0.145 (87.1%)	7.78 (IÎ$_{95\%}$ 0.39–153.86)
MTHFR 677CT&TT*	9.909090909 (IÎ$_{95\%}$ 0.39–254.97)	89.90825688	0.074 (89.1%)	9.17 (IÎ$_{95\%}$ 0.39–215.22)
MTHFR 1298AA*	0.06442577 (IÎ$_{95\%}$ 0.00–1.68)	0	-0.107 (-1284.6%)	0.07 (IÎ$_{95\%}$ 0.00–1.68)
MTHFR 1298AC*	19.42105263 (IÎ$_{95\%}$ 0.74–512.42)	94.85094851	0.128 (94.1%)	16.91 (IÎ$_{95\%}$ 0.73–389.02)
MTHFR 1298CC*	9.133333333 (IÎ$_{95\%}$ 0.29–284.98)	0	0.145 (87.1%)	7.78 (IÎ$_{95\%}$ 0.39–153.86)
MTHFR1298AC&CC*	15.52173913 (IÎ$_{95\%}$ 0.59–405.28)	93.55742297	0.107 (92.8%)	13.85 (IÎ$_{95\%}$ 0.60–321.18)
MTR2756*AA	0.07826087 (IÎ$_{95\%}$ 0.00–2.03)	0	-0.091 (-1060.0%)	0.09 (IÎ$_{95\%}$ 0.00–2.01)
MTR2756*AG	14.04 (IÎ$_{95\%}$ 0.54–365.16)	92.87749288	0.099 (92.1%)	12.64 (IÎ$_{95\%}$ 0.54–294.20)
MTR2756*GG	15.44444444 (IÎ$_{95\%}$ 0.43–557.48)	0	0.229 (91.5%)	11.83 (IÎ$_{95\%}$ 0.67–209.89)
MTR2756AG&GG*	12.77777778 (IÎ$_{95\%}$ 0.49–331.23)	92.17391304	0.091 (91.4%)	11.60 (IÎ$_{95\%}$ 0.50–270.67)
MTRR66*AA	0.497076023 (IÎ$_{95\%}$ 0.02–12.64)	0	-0.017 (-97.7%)	0.51 (IÎ$_{95\%}$ 0.02–11.99
MTRR66*AG	4.745454545 (IÎ$_{95\%}$ 0.19–120.70)	78.92720307	0.040 (78.0%)	4.55 (IÎ$_{95\%}$ 0.19–107.95)
MTRR66*GG	1.193548387 (IÎ$_{95\%}$ 0.05–30.78)	0	0.005 (15.8%)	1.19 (IÎ$_{95\%}$ 0.05–27.77)
MTRR66AG&GG*	2.011764706 (IÎ$_{95\%}$ 0.08–51.15)	50.29239766	0.017 (49.4%)	1.98 (IÎ$_{95\%}$ 0.08–46.89)
Sindrom Arnold-Chiari				
MTHFR677CC	0.296296 (IÎ$_{95\%}$ 0.02–5.01)	-118.75	-0.041 (-223.5%)	0.31 (IÎ$_{95\%}$ 0.02–4.68)
MTHFR 677CT	4 (IÎ$_{95\%}$ 0.24–67.99)	37.5	0.049 (73.7%)	3.80 (IÎ$_{95\%}$ 0.25–57.28)
MTHFR 677TT*	5.48 (IÎ$_{95\%}$ 0.20–146.84)	0	0.131 (78.9%)	4.73 (IÎ$_{95\%}$ 0.29–78.47)
MTHFR 677CT&TT	3.375 (IÎ$_{95\%}$ 0.20–57.04)	35.18518519	0.041 (69.1%)	3.24 (IÎ$_{95\%}$ 0.21–49.01)
MTHFR 1298AA*	0.038655462 (IÎ$_{95\%}$ 0.00–0.86)	0	-0.170 (-2042.9%)	0.05 (IÎ$_{95\%}$ 0.00–0.92)
MTHFR 1298AC*	32.36842105 **(IÎ$_{95\%}$ 1.44–727.44)**	96.91056911	0.200 (96.1%)	25.83 **(IÎ$_{95\%}$ 1.32–504.97)**
MTHFR 1298CC*	5.48 (IÎ$_{95\%}$ 0.20–146.84	0	0.131 (78.9%)	4.73 (IÎ$_{95\%}$ 0.29–78.47)
MTHFR1298AC&CC*	25.86956522 **(IÎ$_{95\%}$ 1.16–575.03)**	96.13445378	0.170 (95.3%)	21.43 **(IÎ$_{95\%}$ 1.09–421.95)**
MTR2756*AA	1.17391304 (IÎ$_{95\%}$ 0.05–25.90)	14.81481481	0.006 (14.3%)	1.17 (IÎ$_{95\%}$ 0.06–22.97)
MTR2756*AG	0.936 (IÎ$_{95\%}$ 0.04–20.72)	0	-0.003 (-6.6%)	0.94 (IÎ$_{95\%}$ 0.05–18.42)
MTR2756*GG	9.266666667 (IÎ$_{95\%}$ 0.30–289.11)	0	0.215 (86.1%)	7.20 (IÎ$_{95\%}$ 0.49–106.26)
MTR2756AG&GG*	0.851851852 (IÎ$_{95\%}$ 0.04–18.79)	0	-0.006 (-16.7%)	0.86 (IÎ$_{95\%}$ 0.04–16.88)
MTRR66*AA	0.298245614 (IÎ$_{95\%}$ 0.01–6.45)	0	-0.038 (-222.2%)	0.31 (IÎ$_{95\%}$ 0.02–6.24)
MTRR66*AG	7.909090909 (IÎ$_{95\%}$ 0.37–171.01)	87.35632184	0.072 (86.4%)	7.33 (IÎ$_{95\%}$ 0.36–147.40)
MTRR66*GG	0.716129032 (IÎ$_{95\%}$ 0.03–15.71)	0	-0.012 (-37.9%)	0.73 (IÎ$_{95\%}$ 0.04–14.35)
MTRR66AG&GG*	3.352941176 (IÎ$_{95\%}$ 0.16–72.47)	70.1754386	0.038 (69.0%)	3.22 (IÎ$_{95\%}$ 0.16–64.74)

Microcefalie				
MTHFR677CC	0.222222 (IÎ$_{95\%}$ 0.04–1.10)	-150	-0.147 (-280.0%)	0.26 (IÎ$_{95\%}$ 0.06–1.08)
MTHFR 677CT	3 (IÎ$_{95\%}$ 0.60–14.97)	28.57143	0.110 (62.2%)	2.65 (IÎ$_{95\%}$ 0.65–10.70)
MTHFR 677TT	5.666667 (IÎ$_{95\%}$ 0.45–71.96)	11.76471	0.252 (75.7%)	4.11 (IÎ$_{95\%}$ 0.70–24.25)
MTHFR 677CT&TT	4.5 (IÎ$_{95\%}$ 0.91–22.23)	44.44444444	0.147 (73.7%)	3.80 (IÎ$_{95\%}$ 0.93–15.53)
MTHFR 1298AA	0.139831 (IÎ$_{95\%}$ 0.03–0.71)	-263.636	-0.218 (-451.1%)	0.18 (IÎ$_{95\%}$ 0.05–0.73)
MTHFR 1298AC	5.083333 (IÎ$_{95\%}$ 0.97–26.54)	34.42623	0.188 (75.4%)	4.06 **(IÎ$_{95\%}$ 1.04–15.90)**
MTHFR 1298CC	5.666667 (IÎ$_{95\%}$ 0.45–71.96)	11.76471	0.252 (75.7%)	4.11 (IÎ$_{95\%}$ 0.70–24.25)
MTHFR1298AC&CC	7.151515152 **(IÎ$_{95\%}$ 1.40–36.48)**	49.15254237	0.218 (81.9%)	5.51 **(IÎ$_{95\%}$ 1.38–22.05)**
***MTR2756*AA**	0.304094 (IÎ$_{95\%}$ 0.06–1.53)	-130.769	-0.122 (-185.9%)	0.35 (IÎ$_{95\%}$ 0.09–1.41)
***MTR2756*AG**	3.625 (IÎ$_{95\%}$ 0.72–18.33)	31.03448	0.135 (67.7%)	3.10 (IÎ$_{95\%}$ 0.77–12.40)
MTR2756*GG	3.088888889 (IÎ$_{95\%}$ 0.12–82.76)	0	0.153 (61.0%)	2.57 (IÎ$_{95\%}$ 0.21–31.11)
MTR2756AG&GG	3.288461538 (IÎ$_{95\%}$ 0.65–16.51)	29.8245614	0.122 (65.0%)	2.86 (IÎ$_{95\%}$ 0.71–11.50)
***MTRR66*AA**	3.75 (IÎ$_{95\%}$ 0.68–20.70)	52.38095	0.106 (70.0%)	3.33 (IÎ$_{95\%}$ 0.69–16.13)
***MTRR66*AG**	0.265432 (IÎ$_{95\%}$ 0.03–2.33)	-39.5349	-0.087 (-242.9%)	0.29 (IÎ$_{95\%}$ 0.04–2.30)
***MTRR66*GG**	0.611111 (IÎ$_{95\%}$ 0.07–5.48)	-9.09091	-0.036 (-57.4%)	0.64 (IÎ$_{95\%}$ 0.08–4.91)
MTRR66AG&GG	0.266666667 (IÎ$_{95\%}$ 0.05–1.47)	-78.57142857	-0.106 (-233.3%)	0.30 (IÎ$_{95\%}$ 0.06–1.45)

Notă: * – caz de aplicare a corecției Haldane-Anscombe (+0.5 unități la celulele cu 0 cazuri).

Anexa 11

Valorile riscului relativ și riscului atribuibil pentru factorii genetici (genotipul matern al genelor ciclului folat) și epigenetici în apariția MCSN/FMCSN

	MCSN vs *control*		FMCSN vs *control*		FMCSN vs MCSN	
	RR	**RA, %**	**RR**	**RA, %**	**Comparație valori RR**	**Comparație valori RA**
Sănătate paternă						
Infecție/TORCH	17	47.05882	58.33333	**61.39706**	↑	↑
Tabagism	18	50	77	**67.83088**	↑	↑
Consum alcool	11.66667	47.76119	51.33333	**67.35075**	↑	↑
Consum droguri	12	7.913669	20	11.8705	↑	↑
Se află în evidență la medici-specialiști	0.742857	-25.7143	1.555556	-12.5	↑	↓
Viciu cardiac	12	7.913669	9.333333	5.57554	↓	↓
Epilepsie	10	6.47482	9.333333	5.57554	↓	↓
Diabet zaharat	18	12.23022	32.30769	18.16547	↑	↑
HTA	20	13.66906	32.30769	18.16547	↑	↑
Boli hematologice	4	2.158273	20	11.8705	↑	↑
Boli genetice	4	2.158273	9.333333	5.57554	↑	↑
Supraponderal (IMC = 25-30)	12	7.913669	20	11.8705	↑	↑
Obezitate (IMC >30)	6	3.597122	4.516129	2.428058	↓	↓
Sănătate maternă/intrauterin						
Infecție/TORCH	7.8	**52.30769**	30.8	**66.34615**	↑	↑
Tabagism	2.666667	7.462687	3.333333	8.58209	↑	↑
Consum alcool	7	17.64706	11.66667	22.79412	↑	↑
Consum droguri	12	7.913669	20	11.8705	↑	↑
Utilizare medicație	4	13.43284	1.555556	2.052239	↓	↓
Se află în evidență la medici-specialiști	3.461538	**56.14035**	8.974359	**53.94737**	↑	↓
Anemie	13.5	36.76471	21	35.66176	↑	↓
Pielonefrită	3.2	36.66667	7	41.66667	↑	↑
Viciu cardiac	1.333333	1.492537	3.333333	8.58209	↑	↑
Epilepsie	14	9.352518	20	11.8705	↑	↑
Hipotireoză	5	5.797101	4.666667	4.891304	↓	↓
Diabet zaharat	6	3.597122	4.516129	2.428058	↓	↓
HTA	7.333333	28.35821	10.60606	28.17164	↑	↓
Boli hematologice	4	2.158273	9.333333	5.57554	↑	↑
Boli genetice	14	9.352518	32.30769	18.16547	↑	↑
Supraponderală (IMC = 25-30)	54	38.1295	84	37.05036	↑	↓
Obezitate (IMC >30)	1.333333	1.492537	1.555556	2.052239	↑	↑
Avorturi spontane în anamneză	1.727273	13.55932	2.121212	11.01695	↑	↓
Maladii genetice în familie	36	25.17986	46.66667	24.46043	↑	↓
Avorturi medicale în anamneză	2.166667	10.9375	2.692308	11.13281	↑	↑
Sarcini stagnate în evoluție	4.666667	16.41791	7.777778	21.64179	↑	↑
Consangvinitate	20	13.66906	32.30769	18.16547	↑	↑
Infecții urinare	1.5	6.451613	2.019231	8.266129	↑	↑
COVID-19	10	6.47482	9.333333	5.57554	↓	↓
Citomegalovirus	53	**75.36232**	303.3333	**80.97826**	↑	↑

Hepatită virală	44	30.93525	63.63636	30.7554	↑	↓
Consum alcool în timpul sarcinii	18	24.63768	31.81818	30.25362	↑	↑
Tabagism în timpul sarcinii	29	40.57971	116.6667	**61.95652**	↑	↑
Consum droguri în sarcină	18	12.23022	32.30769	18.16547	↑	↑
Expunere la substanțe chimice	32	22.30216	63.63636	30.7554	↑	↑
Expunere la radiații	20	13.66906	32.30769	18.16547	↑	↑
Sarcină patologică	3.333333	**80.76923**	27.22222	**83.17308**	↑	↑
Anemie în timpul sarcinii	3.727273	**50.84746**	8.181818	48.09322	↑	↓
Retenție dezvoltare făt	14	9.352518	4.516129	2.428058	↓	↓
Iminență naștere prematură	9.333333	37.31343	23.33333	47.76119	↑	↑
Gestoză	1.090909	1.694915	2.121212	11.01695	↑	↑
Administrare de acid folic (Da)	4.133333	85.45455	0.311111	-19.3182	↓	↓
Administrare de acid folic (Nu)	0.145455	-313.333	19.09091	70.83333	↑	↑
Alți factori						
Sex (băiat)	1.081081	9.090909	1.471471	-19.3182	↑	↓
Sex (fetiță)	0.909091	-8.10811	2.727273	17.22973	↑	↑
Mediu de trai rural	0.878049	-17.2414	3.756098	24.56897	↑	↑
Mediu de trai urban	1.172414	12.19512	1.097179	-17.378	↓	↓
Status economic vulnerabil	3.875	37.09677	11.25	**50.60484**	↑	↑
Status economic satisfăcător	0.629032	-287.5	0.878136	-392.188	↑	↑
SNP genetici						
***MTHFR677*CC**	0.5	-168.75	0.777778	-173.438	↑	↑
MTHFR 677CT	2.285714	32.14286	6.428571	45.3125	↑	↑
MTHFR 677TT	5.5	13.23529	2.333333	3.492647	↓	↓
MTHFR 1298AA	0.644068	-190.909	0.922787	-257.955	↑	↑
MTHFR 1298AC	3.333333	34.42623	7.777778	42.62295	↑	↑
MTHFR 1298CC	1	0	2.333333	3.492647	↑	↑
***MTR2756*AA**	0.684211	-138.462	1.578947	-135.577	↑	↓
***MTR2756*AG**	2.416667	29.31034	4.537037	32.11207	↑	↑
***MTR2756*GG**	2	1.449275	2.258065	1.721014	↑	↑
***MTRR66*AA**	0.392857	-40.4762	0.357143	-45.8333	↓	↑
***MTRR66*AG**	1.259259	16.27907	2.592593	18.60465	↑	↑
***MTRR66*GG**	1.666667	18.18182	2.8	20.45455	↑	↑

Anexa 12

Acte de implementare a inovațiilor

INSTITUȚIA PUBLICĂ
UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
"NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA

Institutul Național de Cercetare în Medicină și Sănătate

Pag. 1 / 1

APROB
Prorector pentru activitate de cercetare,
USMF „Nicolae Testemițanu" din RM
academician al ASM,
prof. univ., dr. hab. șt. med.
_____ Stanislav GROPPA
"____" _____ 2023

ACTUL nr. 20
DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI
(în procesul științifico-practic și/științifico-didactic)

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:„METODĂ DE DIAGNOSTIC AL POLIMORFISMULUI ÎN GENA MTRR66 LA MAMELE COPIILOR CU MALFORMAȚII CONGENITALE CEREBRALE"**
2. **Autori:** TIHAI Olga, doctorand, SPRINCEAN Mariana, dr. hab. șt. med., conf. univ., HADJIU Svetlana, dr. hab. șt. med. prof. univ., RACOVIȚA Stela, asistent univ., LITOVCENCO Anatolii, dr. hab. șt. med., BARBOVA Natalia, dr. șt. med. conf. univ., REVENCO Ninel, dr. hab. șt. med., prof. univ.
3. **Numărul inovației:**. ***Nr.5989 din 21 februarie 2023***
4. **Unde și când a fost implementată**: rezultatele studiului au fost implimentate la Departamentul Pediatrie IP USMF ''Nicolae Testemițanu'' și Clinica de Neurologie Pediatrică a Depertamentului Pediatrie IP USMF „Nicolae Testemițanu" a IMSP Institutul Mamei și Copilului, în perioada 2017-2023 aa.
5. Eficacitatea implementării: Valoarea aplicativă a acestei metode își găsește oglindire în activitatea științifică – ipotezele deduse cât și cunoștințele căpătate vor lărgi orizontul de cercetare la această categorie de pacienți; în procesul de instruire a rezidenților, precum și în activitatea științifică a cadrelor didactice, cu profil pediatrie și neurologie pediatrică; și activitatea practică – cunoștințele căpătate vor îmbunătăți activitatea Clinicii de Neurologie Pediatrică.
6. Rezultatul implementării: Implimentarea evaluării polimorfismelor genetice ale genelor ciclului folat MTRR66 la mamele cu risc major de nașterea copiilor cu malformații congenitale cerebrale va avea efect benefic asupra micșorării riscului nașterea copiilor cu astfel de patologii.

Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere.

IMSP Institutul Mamei și Copilului
Director, dr. șt. med. conf. univ. _____ **Sergiu GLADUN**

Șef Departament Didactic
și Management Academic
conf. univ., dr. șt. med. _____ **Silvia STRATULAT**

Șef departament, Departamentul Cercetare,
dr. hab. șt. med., conf. univ. _____ **Elena RAEVSCHI**

5

APROB
Prorector pentru activitate de cercetare,
USMF "Nicolae Testemițanu" din RM
academician al ASM,
prof. univ., dr. hab. șt. med.
Stanislav GROPPA
_____ 2023

ACTUL nr.19
DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI
(în procesul științifico-practic și/științifico-didactic)

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:„METODĂ DE DIAGNOSTIC AL POLIMORFISMULUI ÎN GENA MTR2756 LA MAMELE COPIILOR CU MALFORMAȚII CONGENITALE CEREBRALE"**
2. **Autori:** TIHAI Olga, doctorand, SPRINCEAN Mariana, dr. hab. șt. med., conf. univ., HADJIU Svetlana, dr. hab. șt. med. prof. univ., RACOVIȚA Stela, asistent univ., LITOVCENCO Anatolii, dr. hab. șt. med., BARBOVA Natalia, dr. șt. med. conf. univ., REVENCO Ninel, dr. hab. șt. med., prof. univ.
3. **Numărul inovației:** ***Nr. 5988 din 21 februarie 2023***
4. **Unde și când a fost implementată**: rezultatele studiului au fost implimentate la Departamentul Pediatrie IP USMF ''Nicolae Testemițanu'' și Clinica de Neurologie Pediatrică a Depertamentului Pediatrie IP USMF „Nicolae Testemițanu" a IMSP Institutul Mamei și Copilului, în perioada 2017-2023 aa.
5. **Eficacitatea implementării**: Valoarea aplicativă a acestei metode își găsește oglindire în activitatea științifică – ipotezele deduse cât și cunoștințele căpătate vor lărgi orizontul de cercetare la această categorie de pacienți; în procesul de instruire a rezidenților, precum și în activitatea științifică a cadrelor didactice, cu profil pediatrie și neurologie pediatrică; și activitatea practică – cunoștințele căpătate vor îmbunătăți activitatea Clinicii de Neurologie Pediatrică.
6. **Rezultatul implementării**: Implimentarea evaluării polimorfismelor genetice ale genelor ciclului folat MTR2756 la mamele cu risc major de nașterea copiilor cu malformații congenitale cerebrale va avea efect benefic asupra micșorarii riscului nașterea copiilor cu astfel de patologii.

Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere.

IMSP Institutul Mamei și Copilului
Director, dr. șt. med., conf. univ. _____ **Sergiu GLADUN**

Șef Departament Didactic
și Management Academic
conf. univ., dr. șt. med. _____ **Silvia STRATULAT**

Șef departament, Departamentul Cercetare,
dr. hab. șt. med., conf. univ. _____ **Elena RAEVSCHI**

5

APROB
Prorector pentru activitate de cercetare,
USMF „Nicolae Testemițanu" din RM
academician al ASM,
prof. univ., dr. hab. şt. med.
_____ Stanislav GROPPA
"05" februarie 2023

ACTUL nr.18
DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI
(în procesul ştiinţifico-practic şi/ştiinţifico-didactic)

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:„METODĂ DE DIAGNOSTIC AL POLIMORFISMULUI ÎN GENA MTHFR1298 LA MAMELE COPIILOR CU MALFORMAȚII CONGENITALE CEREBRALE"**
2. **Autori:** TIHAI Olga, doctorand, SPRINCEAN Mariana, dr. hab. şt. med., conf. univ., HADJIU Svetlana, dr. hab. şt. med. prof. univ., RACOVIȚA Stela, asistent univ., LITOVCENCO Anatolii, dr. hab. şt. med., BARBOVA Natalia, dr. şt. med. conf. univ., REVENCO Ninel, dr. hab. şt. med., prof. univ.
3. **Numărul inovației:** ***Nr.5987 din 21 februarie 2023***
4. **Unde şi când a fost implementată**: rezultatele studiului au fost implimentate la Departamentul Pediatrie IP USMF ''Nicolae Testemiţanu'' şi Clinica de Neurologie Pediatrică a Depertamentului Pediatrie IP USMF „Nicolae Testemiţanu" a IMSP Institutul Mamei şi Copilului, în perioada 2017-2023 aa.
5. Eficacitatea implementării: Valoarea aplicativă a acestei metode îşi găseşte oglindire în activitatea ştiinţifică – ipotezele deduse cât şi cunoştinţele căpătate vor lărgi orizontul de cercetare la această categorie de pacienţi; în procesul de instruire a rezidenţilor, precum şi în activitatea ştiinţifică a cadrelor didactice, cu profil pediatrie şi neurologie pediatrică; şi activitatea practică – cunoştinţele căpătate vor îmbunătăţi activitatea Clinicii de Neurologie Pediatrică.
6. Rezultatul implementării: Implimentarea evaluării polimorfismelor genetice ale genelor ciclului folat MTHFR1298 la mamele cu risc major de naşterea copiilor cu malformaţii congenitale cerebrale va avea efect benefic asupra micşorării riscului naşterea copiilor cu astfel de patologii. ***Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere.***

IMSP Institutul Mamei şi Copilului
Director, dr. şt. med., conf. univ. _____ **Sergiu GLADUN**

Şef Departament Didactic
şi Management Academic
conf. univ., dr. şt. med. _____ **Silvia STRATULAT**

Şef departament, Departamentul Cercetare,
dr. hab. şt. med., conf. univ. _____ **Elena RAEVSCHI**

5

	INSTITUȚIA PUBLICĂ **UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE** **"NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA** **Institutul Național de Cercetare în Medicină și Sănătate**	Pag. 1 / 1

APROB
Prorector pentru activitate de cercetare,
USMF „Nicolae Testemițanu" din RM
academician al ASM,
prof. univ., dr. hab. șt. med.
Stanislav GROPPA
_____ 2023

ACTUL nr.17
DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI
(în procesul științifico-practic și/științifico-didactic)

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:„METODĂ DE DIAGNOSTIC AL POLIMORFISMULUI ÎN GENA MTHFR677 LA MAMELE COPIILOR CU MALFORMAȚII CONGENITALE CEREBRALE"**
2. **Autori:** TIHAI Olga, doctorand, SPRINCEAN Mariana, dr. hab. șt. med., conf. univ., HADJIU Svetlana, dr. hab. șt. med. prof. univ., RACOVIȚA Stela, asistent univ., LITOVCENCO Anatolii, dr. hab. șt. med., BARBOVA Natalia, dr. șt. med. conf. univ., REVENCO Ninel, dr. hab. șt. med., prof. univ.
3. **Numărul inovației:**. ***Nr. 5986 din 21 februarie 2023***
4. **Unde și când a fost implementată**: rezultatele studiului au fost implimentate la Departamentul Pediatrie IP USMF ''Nicolae Testemițanu'' și Clinica de Neurologie Pediatrică a Depertamentului Pediatrie IP USMF „Nicolae Testemițanu" a IMSP Institutul Mamei și Copilului, în perioada 2017-2023 aa.
5. Eficacitatea implementării: Valoarea aplicativă a acestei metode își găsește oglindire în activitatea științifică – ipotezele deduse cât și cunoștințele căpătate vor lărgi orizontul de cercetare la această categorie de pacienți; în procesul de instruire a rezidenților, precum și în activitatea științifică a cadrelor didactice, cu profil pediatrie și neurologie pediatrică; și activitatea practică – cunoștințele căpătate vor îmbunătăți activitatea Clinicii de Neurologie Pediatrică.
6. Rezultatul implementării: Implimentarea evaluării polimorfismelor genetice ale genelor ciclului folat MTHFR677 la mamele cu risc major de nașterea copiilor cu malformații congenitale cerebrale va avea efect benefic asupra micșorării riscului nașterea copiilor cu astfel de patologii.

Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere.

IMSP Institutul Mamei și Copilului
Director, dr. șt. med., conf. univ. _____ **Sergiu GLADUN**

Șef Departament Didactic
și Management Academic
conf. univ., dr. șt. med. _____ **Silvia STRATULAT**

Șef departament, Departamentul Cercetare,
dr. hab. șt. med., conf. univ. _____ **Elena RAEVSCHI**

5

APROB
Prorector pentru activitate de cercetare,
USMF „Nicolae Testemițanu" din RM
academician al AȘM,
prof. univ., dr. hab. șt. med.
Stanislav GROPPA
"_____" _____ 2023

ACTUL nr. 16
DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI
(în procesul științifico-practic și/științifico-didactic)

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:„ESTIMAREA RISCULUI DEZVOLTĂRII ÎN ONTOGENEZĂ A MALFORMAȚIILOR CONGENITALE CEREBRALE FOLAT-DEPENDENTE"**

2. **Autori:** TIHAI Olga, doctorand, SPRINCEAN Mariana, dr. hab. șt. med., conf. univ., HADJIU Svetlana, dr. hab. șt. med. prof. univ., RACOVIȚA Stela, asistent univ., LITOVCENCO Anatolii, dr. hab. șt. med., BARBOVA Natalia, dr. șt. med. conf. univ., REVENCO Ninel, dr. hab. șt. med., prof. univ.

3. **Numărul inovației:** ***Nr.5985 din 21 februarie 2023***

4. **Unde și când a fost implementată**: rezultatele studiului au fost implimentate la Departamentul Pediatrie IP USMF ''Nicolae Testemițanu'' și Clinica de Neurologie Pediatrică a Depertamentului Pediatrie IP USMF „Nicolae Testemițanu" a IMSP Institutul Mamei și Copilului, în perioada 2017-2023 aa.

5. Eficacitatea implementării: Valoarea aplicativă a acestei metode își găsește oglindire în activitatea științifică – ipotezele deduse cât și cunoștințele căpătate vor lărgi orizontul de cercetare la această categorie de pacienți; în procesul de instruire a rezidenților, precum și în activitatea științifică a cadrelor didactice, cu profil pediatrie și neurologie pediatrică; și activitatea practică – cunoștințele căpătate vor îmbunătăți activitatea Clinicii de Neurologie Pediatrică.

6. Rezultatul implementării: Implimentarea evaluării polimorfismelor genetice ale genelor ciclului folat MTHFR la mamele cu risc major de nașterea copiilor cu malformații congenitale cerebrale va avea efect benefic asupra micșorării riscului nașterea copiilor cu astfel de patologii.

Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere.

IMSP Institutul Mamei și Copilului
Director, dr. șt. med., conf. univ. _____ **Sergiu GLADUN**

Șef Departament Didactic
și Management Academic
conf. univ., dr. șt. med. _____ **Silvia STRATULAT**

Șef departament, Departamentul Cercetare,
dr. hab. șt. med., conf. univ. _____ **Elena RAEVSCHI**

5

Anexa 13

Acte de implementare la nivel instituțional

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII
AL
REPUBLICII MOLDOVA

INSTITUȚIA MEDICO-SANITARĂ PUBLICĂ
INSTITUTUL
MAMEI ȘI COPILULUI
(IMSP IMșiC)
str.Burebista, 93
MD-2062, mun.Chișinău
Tel.+ 373 22 52-36-61;
www.mama-copilul.md e-mail: mamsicop@gmail.com

МИНИСТЕРСТВО
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ МОЛДОВА

ПУБЛИЧНОЕ МЕДИКО-САНИТАРНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ
ИНСТИТУТ МАТЕРИ И РЕБЕНКА
(ПМСУ ИМиР)
ул. Буребиста, 93
MD-2062, мун/г Кишинэу
Tel.+ 373 22 52-36-61;
www.mama-copilul.md e-mail:
mamsicop@gmail.com

APROB

Director IMSP IMșiC
dr.șt. med.,conf.univ.
Sergiu GLADUN

" 21 " februarie 2023

ACT DE IMPLEMENTARE nr.512

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:„METODĂ DE DIAGNOSTIC AL POLIMORFISMULUI ÎN GENA MTHFR677 LA MAMELE COPIILOR CU MALFORMAȚII CONGENITALE CEREBRALE"**
2. **Autori:** TIHAI Olga, doctorand, SPRINCEAN Mariana, dr. hab. șt. med., conf. univ., HADJIU Svetlana, dr. hab. șt. med. prof. univ., RACOVIȚA Stela, asistent univ., LITOVCENCO Anatolii, dr. hab. șt. med., BARBOVA Natalia, dr. șt. med. conf. univ., REVENCO Ninel, dr. hab. șt. med., prof. univ.
3. **Numărul inovației:**. ***Nr. 512 din 21 februarie 2023***
4. **Unde și când a fost implementată**: rezultatele studiului au fost implimentate la Departamentul Pediatrie IP USMF ''Nicolae Testemițanu'' și Clinica de Neurologie Pediatrică a Depertamentului Pediatrie IP USMF „Nicolae Testemițanu" a IMSP Institutul Mamei și Copilului, în perioada 2017-2023 aa.
5. Eficacitatea implementării: Valoarea aplicativă a acestei metode își găsește oglindire în activitatea științifică – ipotezele deduse cât și cunoștințele căpătate vor lărgi orizontul de cercetare la această categorie de pacienți; în procesul de instruire a rezidenților, precum și în activitatea științifică a cadrelor didactice, cu profil pediatrie și neurologie pediatrică; și activitatea practică – cunoștințele căpătate vor îmbunătăți activitatea Clinicii de Neurologie Pediatrică.
6. Rezultatul implementării: Implimentarea evaluării polimorfismelor genetice ale genelor ciclului folat MTHFR677 la mamele cu risc major de nașterea copiilor cu malformații congenitale cerebrale va avea efect benefic asupra micșorării riscului nașterea copiilor cu astfel de patologii.

Secretar științific
dr. șt. med., conf.univ. **Tatiana CARAUȘ**

1

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII
AL
REPUBLICII MOLDOVA

INSTITUȚIA MEDICO-SANITARĂ PUBLICĂ
INSTITUTUL
MAMEI ȘI COPILULUI
(IMSP IMșiC)
str.Burebista, 93
MD-2062, mun.Chișinău
Tel.+ 373 22 52-36-61;
www.mama-copilul.md e-mail: mamsicop@gmail.com

МИНИСТЕРСТВО
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ МОЛДОВА

ПУБЛИЧНОЕ МЕДИКО-САНИТАРНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ
ИНСТИТУТ МАТЕРИ И РЕБЕНКА
(ПМСУ ИМиР)
ул. Буребиста, 93
MD-2062, мун/г Кишинэу
Tel.+ 373 22 52-36-61;
www.mama-copilul.md e-mail:
mamsicop@gmail.com

APROB

Director IMSP IMșiC
dr.șt. med.,conf.univ.
Sergiu GLADUN

" 21 " februarie 2023

ACT DE IMPLEMENTARE nr.513

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:„METODĂ DE DIAGNOSTIC AL POLIMORFISMULUI ÎN GENA MTHFR1298 LA MAMELE COPIILOR CU MALFORMAȚII CONGENITALE CEREBRALE"**
2. **Autori:** TIHAI Olga, doctorand, SPRINCEAN Mariana, dr. hab. șt. med., conf. univ., HADJIU Svetlana, dr. hab. șt. med. prof. univ., RACOVIȚA Stela, asistent univ., LITOVCENCO Anatolii, dr. hab. șt. med., BARBOVA Natalia, dr. șt. med. conf. univ., REVENCO Ninel, dr. hab. șt. med., prof. univ.
3. **Numărul inovației:.*Nr.513 din 21 februarie 2023***
4. **Unde și când a fost implementată**: rezultatele studiului au fost implimentate la Departamentul Pediatrie IP USMF ''Nicolae Testemițanu'' și Clinica de Neurologie Pediatrică a Depertamentului Pediatrie IP USMF „Nicolae Testemițanu" a IMSP Institutul Mamei și Copilului, în perioada 2017-2023 aa.
5. Eficacitatea implementării: Valoarea aplicativă a acestei metode își găsește oglindire în activitatea științifică – ipotezele deduse cât și cunoștințele căpătate vor lărgi orizontul de cercetare la această categorie de pacienți; în procesul de instruire a rezidenților, precum și în activitatea științifică a cadrelor didactice, cu profil pediatrie și neurologie pediatrică; și activitatea practică – cunoștințele căpătate vor îmbunătăți activitatea Clinicii de Neurologie Pediatrică.
6. Rezultatul implementării: Implimentarea evaluării polimorfismelor genetice ale genelor ciclului folat MTHFR1298 la mamele cu risc major de nașterea copiilor cu malformații congenitale cerebrale va avea efect benefic asupra micșorării riscului nașterea copiilor cu astfel de patologii.

Secretar științific
dr. șt. med., conf.univ. **Tatiana CARAUȘ**

1

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII
AL
REPUBLICII MOLDOVA

INSTITUȚIA MEDICO-SANITARĂ PUBLICĂ
INSTITUTUL
MAMEI ȘI COPILULUI
(IMSP IMșiC)
str.Burebista, 93
MD-2062, mun.Chișinău
Tel.+ 373 22 52-36-61;
www.mama-copilul.md e-mail: mamsicop@gmail.com

МИНИСТЕРСТВО
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ МОЛДОВА

ПУБЛИЧНОЕ МЕДИКО-САНИТАРНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ
ИНСТИТУТ МАТЕРИ И РЕБЕНКА
(ПМСУ ИМиР)
ул. Буребиста, 93
MD-2062, мун/г Кишинэу
Tel.+ 373 22 52-36-61;
www.mama-copilul.md e-mail:
mamsicop@gmail.com

APROB

Director IMSP IMșiC
dr.șt. med.,conf.univ.
Sergiu GLADUN

" 21 " februarie 2023

ACT DE IMPLEMENTARE nr.511

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:„ESTIMAREA RISCULUI DEZVOLTĂRII ÎN ONTOGENEZĂ A MALFORMAȚIILOR CONGENITALE CEREBRALE FOLAT-DEPENDENTE"**
2. **Autori:** TIHAI Olga, doctorand, SPRINCEAN Mariana, dr. hab. șt. med., conf. univ., HADJIU Svetlana, dr. hab. șt. med. prof. univ., RACOVIȚA Stela, asistent univ., LITOVCENCO Anatolii, dr. hab. șt. med., BARBOVA Natalia, dr. șt. med. conf. univ., REVENCO Ninel, dr. hab. șt. med., prof. univ.
3. **Unde și când a fost implementată**: rezultatele studiului au fost implimentate la Departamentul Pediatrie IP USMF ''Nicolae Testemițanu'' și Clinica de Neurologie Pediatrică a Depertamentului Pediatrie IP USMF „Nicolae Testemițanu" a IMSP Institutul Mamei și Copilului, în perioada 2017-2023 aa.
4. Eficacitatea implementării: Valoarea aplicativă a acestei metode își găsește oglindire în activitatea științifică – ipotezele deduse cât și cunoștințele căpătate vor lărgi orizontul de cercetare la această categorie de pacienți; în procesul de instruire a rezidenților, precum și în activitatea științifică a cadrelor didactice, cu profil pediatrie și neurologie pediatrică; și activitatea practică – cunoștințele căpătate vor îmbunătăți activitatea Clinicii de Neurologie Pediatrică.
5. Rezultatul implementării: Implimentarea evaluării polimorfismelor genetice ale genelor ciclului folat MTHFR la mamele cu risc major de nașterea copiilor cu malformații congenitale cerebrale va avea efect benefic asupra micșorării riscului nașterea copiilor cu astfel de patologii.

Secretar științific
dr. șt. med., conf.univ. **Tatiana CARAUȘ**

1

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII
AL
REPUBLICII MOLDOVA

INSTITUȚIA MEDICO-SANITARĂ PUBLICĂ
INSTITUTUL
MAMEI ȘI COPILULUI
(IMSP IMșiC)
str.Burebista, 93
MD-2062, mun.Chișinău
Tel.+ 373 22 52-36-61;
www.mama-copilul.md e-mail: mamsicop@gmail.com

МИНИСТЕРСТВО
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ МОЛДОВА

ПУБЛИЧНОЕ МЕДИКО-САНИТАРНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ
ИНСТИТУТ МАТЕРИ И РЕБЕНКА
(ПМСУ ИМиР)
ул. Буребиста, 93
MD-2062, мун/г Кишинэу
Tel.+ 373 22 52-36-61;
www.mama-copilul.md e-mail:
mamsicop@gmail.com

APROB

Director IMSP IMșiC
dr.șt. med.,conf.univ.
Sergiu GLADUN

" 21 " februarie 2023

ACT DE IMPLEMENTARE nr.515

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:„METODĂ DE DIAGNOSTIC AL POLIMORFISMULUI ÎN GENA MTRR66 LA MAMELE COPIILOR CU MALFORMAȚII CONGENITALE CEREBRALE"**
2. **Autori:** TIHAI Olga, doctorand, SPRINCEAN Mariana, dr. hab. șt. med., conf. univ., HADJIU Svetlana, dr. hab. șt. med. prof. univ., RACOVIȚA Stela, asistent univ., LITOVCENCO Anatolii, dr. hab. șt. med., BARBOVA Natalia, dr. șt. med. conf. univ., REVENCO Ninel, dr. hab. șt. med., prof. univ.
3. **Numărul inovației:**. ***Nr.515 din 21 februarie 2023***
4. **Unde și când a fost implementată**: rezultatele studiului au fost implimentate la Departamentul Pediatrie IP USMF ''Nicolae Testemițanu'' și Clinica de Neurologie Pediatrică a Depertamentului Pediatrie IP USMF „Nicolae Testemițanu" a IMSP Institutul Mamei și Copilului, în perioada 2017-2023 aa.
5. Eficacitatea implementării: Valoarea aplicativă a acestei metode își găsește oglindire în activitatea științifică – ipotezele deduse cât și cunoștințele căpătate vor lărgi orizontul de cercetare la această categorie de pacienți; în procesul de instruire a rezidenților, precum și în activitatea științifică a cadrelor didactice, cu profil pediatrie și neurologie pediatrică; și activitatea practică – cunoștințele căpătate vor îmbunătăți activitatea Clinicii de Neurologie Pediatrică.
6. Rezultatul implementării: Implimentarea evaluării polimorfismelor genetice ale genelor ciclului folat MTRR66 la mamele cu risc major de nașterea copiilor cu malformații congenitale cerebrale va avea efect benefic asupra micșorării riscului nașterea copiilor cu astfel de patologii.

Secretar științific
dr. șt. med., conf.univ. **Tatiana CARAUȘ**

1

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII
AL
REPUBLICII MOLDOVA

INSTITUȚIA MEDICO-SANITARĂ PUBLICĂ
INSTITUTUL
MAMEI ȘI COPILULUI
(IMSP IMșiC)
str.Burebista, 93
MD-2062, mun.Chișinău
Tel.+ 373 22 52-36-61;
www.mama-copilul.md e-mail: mamsicop@gmail.com

МИНИСТЕРСТВО
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ МОЛДОВА

ПУБЛИЧНОЕ МЕДИКО-САНИТАРНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ
ИНСТИТУТ МАТЕРИ И РЕБЕНКА
(ПМСУ ИМиР)
ул. Буребиста, 93
MD-2062, мун/г Кишинэу
Tel.+ 373 22 52-36-61;
www.mama-copilul.md e-mail:
mamsicop@gmail.com

APROB

Director IMSP IMșiC
dr.șt. med.,conf.univ.
Sergiu GLADUN

" 21 " februarie 2023

ACT DE IMPLEMENTARE nr.514

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:„METODĂ DE DIAGNOSTIC AL POLIMORFISMULUI ÎN GENA MTR2756 LA MAMELE COPIILOR CU MALFORMAȚII CONGENITALE CEREBRALE"**
2. **Autori:** TIHAI Olga, doctorand, SPRINCEAN Mariana, dr. hab. șt. med., conf. univ., HADJIU Svetlana, dr. hab. șt. med. prof. univ., RACOVIȚA Stela, asistent univ., LITOVCENCO Anatolii, dr. hab. șt. med., BARBOVA Natalia, dr. șt. med. conf. univ., REVENCO Ninel, dr. hab. șt. med., prof. univ.
3. **Numărul inovației:.*Nr. 514 din 21 februarie 2023***
4. **Unde și când a fost implementată**: rezultatele studiului au fost implimentate la Departamentul Pediatrie IP USMF ''Nicolae Testemițanu'' și Clinica de Neurologie Pediatrică a Depertamentului Pediatrie IP USMF „Nicolae Testemițanu" a IMSP Institutul Mamei și Copilului, în perioada 2017-2023 aa.
5. **Eficacitatea implementării**: Valoarea aplicativă a acestei metode își găsește oglindire în activitatea științifică – ipotezele deduse cât și cunoștințele căpătate vor lărgi orizontul de cercetare la această categorie de pacienți; în procesul de instruire a rezidenților, precum și în activitatea științifică a cadrelor didactice, cu profil pediatrie și neurologie pediatrică; și activitatea practică – cunoștințele căpătate vor îmbunătăți activitatea Clinicii de Neurologie Pediatrică.
6. **Rezultatul implementării**: Implimentarea evaluării polimorfismelor genetice ale genelor ciclului folat MTR2756 la mamele cu risc major de nașterea copiilor cu malformații congenitale cerebrale va avea efect benefic asupra micșorării riscului nașterea copiilor cu astfel de patologii.

Secretar științific
dr. șt. med., conf.univ. **Tatiana CARAUȘ**

1

Anexa 14

Certificate de inovator

Republica Moldova
Ministerul Sănătăţii

CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. 5985

Pentru inovaţia cu titlul

ESTIMAREA RISCULUI DEZVOLTĂRII ÎN ONTOGENEZĂ A MALFORMAȚIILOR CONGENITALE CEREBRALE FOLAT-DEPENDENTE

Inovaţia a fost înregistrată pe data de
la Universitatea de Stat de Medicină şi Farmacie
"Nicolae Testemiţanu"

Se recunoaşte calitatea de autor(i)

TIHAI Olga, SPRINCEAN Mariana, HADJIU Svetlana,RACOVIȚA Stela,LITOVCENCO Anatolii, BARBOVA Natalia, REVENCO Ninel

Data eliberării 21 februarie 2023

L.S.

(Semnătura autorizată)

Republica Moldova
Ministerul Sănătăţii

CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. 5986

Pentru inovaţia cu titlul

METODĂ DE DIAGNOSTIC AL POLIMORFISMULUI ÎN GENA MTHFR677 LA MAMELE COPIILOR CU MALFORMAŢII CONGENITALE CEREBRALE

Inovaţia a fost inregistrată pe data de
la Universitatea de Stat de Medicină şi Farmacie
"Nicolae Testemiţanu"

Se recunoaşte calitatea de autor(i)

TIHAI Olga, SPRINCEAN Mariana, HADJIU Svetlana,RACOVIŢA Stela,LITOVCENCO Anatolii, BARBOVA Natalia, REVENCO Ninel

Data eliberării 21 februarie 2023

L.Ş.

(Semnătura autorizată)

Republica Moldova
Ministerul Sănătăţii

CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. 5987

Pentru inovaţia cu titlul

METODĂ DE DIAGNOSTIC AL POLIMORFISMULUI ÎN GENA MTHFR1298 LA MAMELE COPIILOR CU MALFORMAȚII CONGENITALE CEREBRALE

Inovaţia a fost înregistrată pe data de
la Universitatea de Stat de Medicină şi Farmacie
"Nicolae Testemiţanu"

Se recunoaşte calitatea de autor(i)

TIHAI Olga, SPRINCEAN Mariana, HADJIU Svetlana, RACOVIȚA Stela, LITOVCENCO Anatolii, BARBOVA Natalia, REVENCO Ninel

Data eliberării 21 februarie 2023

L.Ş.

(Semnătura autorizată)

Republica Moldova
Ministerul Sănătăţii

CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. 5988

Pentru inovaţia cu titlul

METODĂ DE DIAGNOSTIC AL POLIMORFISMULUI ÎN GENA MTR2756 LA MAMELE COPIILOR CU MALFORMAŢII CONGENITALE CEREBRALE

Inovaţia a fost înregistrată pe data de
la Universitatea de Stat de Medicină şi Farmacie
"Nicolae Testemiţanu"

Se recunoaşte calitatea de autor(i)

TIHAI Olga, SPRINCEAN Mariana, HADJIU Svetlana, RACOVIŢA Stela, LITOVCENCO Anatolii, BARBOVA Natalia, REVENCO Ninel

Data eliberării 21 februarie 2023

L.Ş.

(Semnătura autorizată)

Republica Moldova
Ministerul Sănătăţii

CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. 5989

Pentru inovaţia cu titlul

METODĂ DE DIAGNOSTIC AL POLIMORFISMULUI ÎN GENA MTRR66 LA MAMELE COPIILOR CU MALFORMAȚII CONGENITALE CEREBRALE

Inovaţia a fost înregistrată pe data de
la Universitatea de Stat de Medicină şi Farmacie
"Nicolae Testemiţanu"

Se recunoaşte calitatea de autor(i)

TIHAI Olga, SPRINCEAN Mariana, HADJIU Svetlana,RACOVIȚA Stela,LITOVCENCO Anatolii, BARBOVA Natalia, REVENCO Ninel

Data eliberării 21 februarie 2023

L.S.

(Semnătura autorizată)

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII,
al REPUBLICII MOLDOVA
INSTITUȚIA MEDICO-SANITARĂ PUBLICĂ
INSTITUTUL MAMEI ȘI COPILULUI
(IMSP IM și C)
MD - 2062, Chișinău, str.Burebista, 93

Certificat de inovator

Nr. 515 data 21 februarie 2023

acordat în conformitate cu art. 16 al Legii nr. 138-XV din 10.05.2001

Numele, Prenumele TIHAI Olga, SPRINCEAN Mariana, HADJIU Svetlana, RACOVIȚA Stela, LITOVCENCO Anatolii, BARBOVA Natalia, REVENCO Ninel
(autorilor & coautorilor)

Pentru inovația „METODĂ DE DIAGNOSTIC AL POLIMORFISMULUI ÎN GENA MTRR66 LA MAMELE COPIILOR CU MALFORMAȚII CONGENITALE CEREBRALE”
(denumirea)

L.Ș.

Director general IMSP IMșiC
Dr. șt. med., conf. univer.
Sergiu GLADUN

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII,
al REPUBLICII MOLDOVA
INSTITUȚIA MEDICO-SANITARĂ PUBLICĂ
INSTITUTUL MAMEI ȘI COPILULUI
(IMSP IM și C)
MD - 2062, Chișinău, str.Burebista, 93

Certificat de inovator

Nr. 514 data 21 februarie 2023

acordat în conformitate cu art. 16 al Legii nr. 138-XV din 10.05.2001

Numele, Prenumele TIHAI Olga, SPRINCEAN Mariana, HADJIU Svetlana, RACOVIȚA Stela, LITOVCENCO Anatolii, BARBOVA Natalia, REVENCO Ninel
(autorilor & coautorilor)

Pentru inovația „METODĂ DE DIAGNOSTIC AL POLIMORFISMULUI ÎN GENA MTR2756 LA MAMELE COPIILOR CU MALFORMAȚII CONGENITALE CEREBRALE”
(denumirea)

L.Ș.

Director general IMSP IMșiC
Dr. șt. med., conf. univer.
Sergiu GLADUN

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII,
al REPUBLICII MOLDOVA
INSTITUȚIA MEDICO-SANITARĂ PUBLICĂ
INSTITUTUL MAMEI ȘI COPILULUI
(IMSP IM și C)
MD - 2062, Chișinău, str.Burebista, 93

Certificat de inovator

Nr. 513 data 21 februarie 2023

acordat în conformitate cu art. 16 al Legii nr. 138-XV din 10.05.2001

Numele, Prenumele TIHAI Olga, SPRINCEAN Mariana, HADJIU Svetlana, RACOVIȚA Stela, LITOVCENCO Anatolii, BARBOVA Natalia, REVENCO Ninel
(autorilor & coautorilor)

Pentru inovația „METODĂ DE DIAGNOSTIC AL POLIMORFISMULUI ÎN GENA MTHFR1298 LA MAMELE COPIILOR CU MALFORMAȚII CONGENITALE CEREBRALE”
(denumirea)

L.Ș.

Director general IMSP IMșiC
Dr. șt. med., conf. univer.
Sergiu GLADUN

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII,
al REPUBLICII MOLDOVA
INSTITUȚIA MEDICO-SANITARĂ PUBLICĂ
INSTITUTUL MAMEI ȘI COPILULUI
(IMSP IM și C)
MD - 2062, Chișinău, str.Burebista, 93

Certificat de inovator

Nr. 512 data 21 februarie 2023

acordat în conformitate cu art. 16 al Legii nr. 138-XV din 10.05.2001

Numele, Prenumele TIHAI Olga, SPRINCEAN Mariana, HADJIU Svetlana, RACOVIȚA Stela, LITOVCENCO Anatolii, BARBOVA Natalia, REVENCO Ninel
(autorilor & coautorilor)

Pentru inovația „METODĂ DE DIAGNOSTIC AL POLIMORFISMULUI ÎN GENA MTHFR677 LA MAMELE COPIILOR CU MALFORMAȚII CONGENITALE CEREBRALE”
(denumirea)

L.Ș.

Director general IMSP IMșiC
Dr. șt. med., conf. univer.
Sergiu GLADUN

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII,
al REPUBLICII MOLDOVA
INSTITUȚIA MEDICO-SANITARĂ PUBLICĂ
INSTITUTUL MAMEI ȘI COPILULUI
(IMSP IM și C)
MD - 2062, Chișinău, str.Burebista, 93

Certificat de inovator

Nr. 511 data 21 februarie 2023

acordat în conformitate cu art. 16 al Legii nr. 138-XV din 10.05.2001

Numele, Prenumele TIHAI Olga, SPRINCEAN Mariana, HADJIU Svetlana, RACOVIȚA Stela, LITOVCENCO Anatolii, BARBOVA Natalia, REVENCO Ninel
(autorilor & coautorilor)

Pentru inovația „ESTIMAREA RISCULUI DEZVOLTĂRII ÎN ONTOGENEZĂ A MALFORMAȚIILOR CONGENITALE CEREBRALE FOLAT-DEPENDENTE”
(denumirea)

L.Ș.

Director general IMSP IMșiC
Dr. șt. med., conf. univer.
Sergiu GLADUN

Anexa 15

Brevet de invenție

REPUBLICA MOLDOVA

Agenția de Stat pentru Proprietatea Intelectuală

BREVET
DE INVENȚIE DE SCURTĂ DURATĂ

Nr. **1731**

eliberat în temeiul Legii nr. 50/2008 privind protecția invențiilor

Titlu: **Metodă de stabilire a riscului dezvoltării malformațiilor congenitale cerebrale folat-dependente la copii**

Titular: **IP UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ŞI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD**

Data de depozit: **2022.11.08**

Durata brevetului : **6 ani**

Descrierea invenției, revendicările şi desenele constituie parte integrantă a prezentului brevet de invenție de scurtă durată

AGENȚIA DE STAT PENTRU PROPRIETATEA INTELECTUALĂ • REPUBLICA MOLDOVA •

Director general

CHIŞINĂU

Anexa 16

Adeverință privind înscrierea obiectelor dreptului de autor și ale drepturilor conexe

REPUBLICA MOLDOVA

Agenția de Stat pentru
Proprietatea Intelectuală

ADEVERINȚĂ

privind înscrierea obiectelor
dreptului de autor şi ale drepturilor conexe

SERIA OȘ NR. 7704
DIN 30.10.2023

eliberată în temeiul Legii nr. 230/2022 privind dreptul de autor
și drepturile conexe, prin care se confirmă înscrierea obiectului de pe verso
în Registrul de Stat al obiectelor protejate de dreptul de autor și drepturile conexe

AGENȚIA DE STAT PENTRU PROPRIETATEA INTELECTUALĂ • REPUBLICA MOLDOVA •

Director general

CHIȘINĂU

Anexa 17

Diplomă (medalie de aur) la un forum de invenții și inovații

SALONUL INTERNAȚIONAL DE
INVENTII INOVAȚII
„TRAIAN VUIA" TIMIȘOARA

Diploma

IS AWARDED GOLD MEDAL

For the invention

METHOD FOR DETERMINING THE RISK OF DEVELOPING FOLATE-DEPENDENT CEREBRAL CONGENITAL MALFORMATIONS IN CHILDREN

Authors

TIHAI OLGA, SPRINCEAN MARIANA, HADJIU SVETLANA, REVENCO NINEL

President of the Jury, Eng. Inv. Remi RĂDULESCU

President of the Exhibition, Prof. Narcisa MEDERLE

13-15 JUNE 2024

Anexa 18

LISTA PUBLICAȚIILOR ȘI PARTICIPĂRILOR LA FORUMURI ȘTIINȚIFICE

LISTA PUBLICAȚIILOR ȘI PARTICIPĂRILOR LA FORUMURI ȘTIINȚIFICE

a dnei **Tihai Olga**, realizate la teza de doctor în științe medicale,

cu tema **„Estimarea riscului dezvoltării în ontogeneză a malformațiilor congenitale ale sistemului nervos folat-dependente"**,

Programul de doctorat: 322.01 - Pediatrie și neonatologie,

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu" din Republica Moldova,

conducător de doctorat: Sprincean, Mariana, dr. hab. șt. med., conf. univ

LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE

- **Articole în reviste științifice peste hotare:**
  - ✓ **articole în reviste ISI, SCOPUS și alte baze de date internaționale recunoscute de ANACEC**

1. **Tihai O**, Sprincean M, Anton-Paduraru D, Gorduza E, Calcii C, Lupusor N, Racovita S, Marga S, Feghiu L, Cuznet L, Revenco N, Hadjiu S. The genetics of folate metabolism and maternal risks of birth of a child with congenital brain malformations. Archives of the Balkan Medical Union. 2023;58(2):187-194. ISSN: print 1584-9244, ISSN electronic 2558-815X, DOI:10.31688/ABMU.2023.58.2.12 (IF Scopus: 0,5)

  - ✓ **articole în reviste din străinătate recenzate**

2. **Tihai O**, Hadjiu S, Sprincean M, Barbova N, Egorov V, Revenco N. Impactul metabolismului acidului folic asupra dezvoltării malformațiilor congenitale cerebrale la copii: efectul genotipului matern. Revista de Neurologie si Psihiatrie a Copilului si Adolescentului din România. 2022;28(3):27-33. ISSN 2068-8040. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/199950

3. Sprincean M, Hadjiu S, Etco L, Calcii C, Bejan N, Egorov V, Lupusor N, **Tihai O**, Revenco N. Stroke in children with some genetic pathologies. The Romanian Journal of Child and Adolescent Neurology and Psychiatry. 2018;2(24):21-29. ISSN: 2068-8040. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/142937

- **Articole în lucrările conferințelor științifice**
  - ✓ **naționale cu participare internațională**

4. **Tihai O**, Sprincean M, Racoviță S, Barbova N, Halabudenco E, Egorov V, Călcâi C, Revenco N, Hadjiu S. Aspecte ale diagnosticului prenatal la fetuşii cu malformații congenitale cerebrale: prezentare de caz clinic. In: Materialele simpozionului național cu participare internațională „Registrul maladiilor reumatice la copii: experiența Republicii Moldova". 2023. p.69-73. ISBN 978-9975-58-285-8. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/196920

Autor:

Secretar științific al Senatului,
dr. filos. Didina Nistreanu

1

✓ **culegeri de lucrări ale conferințelor internaționale**

5. Sprincean M, Hadjiu S, **Tihai O**, Barbova N. Prenatal diagnosis of cerebral congenital malformations folate dependent in pregnancies with genetic risk. In: Middle East International Conference on Contemporary Scientific Studies, Ed. 5, 27-28 martie 2021, Ankara. Ankara: Farabi Publishing House; 2021, vol. 2, pp. 394-401. ISBN 978-625-7898-38-6. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/219355

✓ **naționale**

6. Sprincean M, Hadjiu S, Călcîi C, Galbur V, **Tihai O**, Revenco N. Bolile genetice și epilepsia (reviu de literatură). In: Actualități în pediatrie și impactul imunizării asupra morbidității și mortalității copiilor în Republica Moldova; 22-23 septembrie 2023, Chișinău. Chișinău: Taicom (Ridgeone Group), 2023, pp. 31-36. ISBN 978-9975-58-293-3 https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/197770

7. Sprincean M, Sprincean S, Hadjiu S, Sidorenko , Calcii C, Racoviță S, **Tihai O**, Popa C, Dumitraş A, Galbur V, Ababii M, Balica N, Revenco N, Groppa S. Bioethical principles in prenatal diagnostics and genetic counseling. In: NANO: - 2024: "Quo Vadis – Ethics of the Scientific Research", Chişinău. Chişinău, Republica Moldova, 2024, pp. 44-47. ISBN 978-9975-64-422-8. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/204131

- **Rezumate/abstracte/teze în lucrările conferințelor științifice naționale și internaționale**

8. **Tihai O**, Hadjiu S, Sprincean M, Călcîi C, Lupuşor N, Bejan N, Revenco N. Malformatiile congenitale cerebrale la copii: cosideratii clinico-genetice. Supliment la Revista de Neurologie si Psihiatrie a Copilului si Adolescentului din România. Predeal, România: Editura ArtPress, 2018;3(24S):73-74. ISSN 2068-8040. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/143090

9. **Tihai O**, Hadjiu S, Sprincean M, Barbova N, Egorov V, Halabudenco E, Revenco N Congenital cerebral malformations in the pregnancies with genetic risc. In: International Congress of Geneticists and Breeders from the Republic of Moldova, Ed. 11, 15-16 iunie 2021, Chişinău. Chişinău, Republica Moldova: Centrul Editorial-Poligrafic al Universității de Stat din Moldova, 2021, Ediția 11, p. 64. ISBN 978-9975-933-56-8. DOI: https://doi.org/10.53040/cga11.2021

10. **Tihai O**, Hadjiu S, Barbova N, Revenco N, Sprincean M. Factorii de risc al malformatiilor congenitale cerebrale folat-dependente. Supliment la Revista de Neurologie si Psihiatrie a Copilului si Adolescentului din Romania. București, România, 2021;27(3R):44-45. ISSN 2068-8040. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/200487

11. **Tihai O**, Hadjiu S, Sprincean M, Calcii C, Lupusor N, Griu C, Feghiu L, Revenco N. Risk of cerebral vascular accident in children with congenital cerebral malformations. In: European Stroke Journal. Lyon, France, 2022;7(1S):121. DOI:10.1177/23969873221087559

Autor:

Secretar științific al Senatului,
dr. filos. Didina Nistreanu

2

12. **Tihai O**, Hadjiu S, Sprincean M, Barbova N, Egorov V, Revenco N. Polimorfismul genelor ciclului folat la mamele copiilor cu malformaţii congenitale cerebrale. În: Revista Română a SNPCAR. Cel de-al XXII Congres SNPCAR şi a 44-a Conferinţă Naţională SNPCAR cu participare internaţională. Timişoara, România: Editura ArtPress, 2022;28(3R):120-122. ISSN 2068-8040. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/200274

13. **Tihai O**, Sprincean M, Racoviţă S, Călcâi C, Lupuşor N, Feghiu L, Cuzneţ L, Grîu C, Revenco N, Hadjiu S. Evoluţia şi prognosticul malformaţiilor congenitale ale sistemului nervos central. Caz clinic. În: Revista Română a SNPCAR. Cel de-al XXIV-lea Congres SNPCAR şi a 46-a Conferinţă Naţională de Neurologie-Psihiatrie a Copilului şi Adolescentului şi Profesiuni Asociate din România cu participare internaţională. Craiova, România, 2023;29(3R):33. ISSN 2068-8040. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/200185

✓ **naţionale**

14. **Tihai O**, Hadjiu S, Barbova N, Egorov V, Revenco N, Sprincean M. Postnatal diagnosis of congenital brain malformation in children. In: Materialele Conferinţei ştiinţifice anuale „Cercetarea în biomedicină şi sănătate: calitate, excelenţă şi performanţă" USMF „Nicolae Testemiţanu". Chişinău: CEP „Medicina", 2021;362. ISBN 978-9975-82-223-7. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/144796

15. **Tihai O**, Sprincean M, Barbova N, Revenco N, Hadjiu S. Identification of genes involved in folic acid synthesis in mothers of children with congenital cerebral malformations. In: Revista de Ştiinţe ale Sănătăţii din Moldova. 2022;3,1(29):391. ISSN 2345-1467. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/169111

16. **Tihai O**, Sprincean M, Barbova N, Egorov V, Revenco N, Hadjiu S. Diagnosticul genetic al malformaţiilor congenitale cerebrale folat-dependente la copii. În: Materialele Conferinţei Chişinău-Sibiu Managementul interdisciplinar al copilului. Chişinău: Tipografia „Taicom", 2022;156-157. ISBN 978-9975-58-274-2. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/171790

17. **Tihai O**, Sprincean M, Racoviţă S, Barbova N, Revenco N, Hadjiu S. Malformaţiile congenitale cerebrale la copiii cu accident vascular cerebral în Republica Moldova. În: Materialele Conferinţei ştiinţifice anuale „Cercetarea în biomedicină şi sănătate: calitate, excelenţă şi performanţă" USMF „Nicolae Testemiţanu". Chişinău: CEP „Medicina", 2023;573. ISSN 2345-1476. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/195012

18. **Tihai O**, Sprancean M, Galbur V, Dumitraş A, Revenco N, Hadjiu S, Sprincean M. Aspecte genetice în malformaţiile congenitale ale sistemului nervos central. Caz clinic. În: „Cercetarea în biomedicină şi sănătate: calitate, excelenţă şi performanţă" USMF „Nicolae Testemiţanu". Chişinău: CEP „Medicina" 2024;467 ISSN 2345-1467. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/224197

Autor:

Secretar ştiinţific al Senatului,
dr. filos. Didina Nistreanu

- **Brevete de invenţii, patente, certificate de înregistrare, materiale la saloanele de invenţii**
  - **Brevet de invenţie**

19. **Tihai O**, Sprincean M, Hadjiu S, Revenco N. Metodă de stabilire a riscului dezvoltării malformaţiilor congenitale cerebrale folat-dependente la copii. Brevet de invenţie MD 1731 Y. BOPI. 2024 Dec. 2023.

- **Drept de autor**

20. **Tihai O**, Sprincean M, Hadjiu S, Revenco N. Metodă de stabilire a riscului dezvoltării malformaţiilor congenitale cerebrale folat-dependente la copii. Drept de autor OŞ 7704 2023 Oct. 30.

  - **Certificate de inovaţie**

21. **Tihai O**, Sprincean M, Hadjiu S, Racoviţa S, Litovcenco A, Barbova N, Revenco N. Estimarea riscului dezvoltării în ontogeneză a malformaţiilor congenitale cerebrale folat-dependente. Certificat de inovaţie Nr. 5985. 21 Feb. 2023.

22. **Tihai O**, Sprincean M, Hadjiu S, Racoviţa S, Litovcenco A, Barbova N, Revenco N. Metodă de diagnostic al polimorfismului în gena MTHFR677 la mamele copiilor cu malformaţii congenitale cerebrale. Certificat de inovaţie Nr. 5986. 21 Feb. 2023.

23. **Tihai O**, Sprincean M, Hadjiu S, Racoviţa S, Litovcenco A, Barbova N, Revenco N. Metodă de diagnostic al polimorfismului în gena MTHFR1298 la mamele copiilor cu malformaţii congenitale cerebrale. Certificat de inovaţie Nr. 5987. 21 Feb. 2023.

24. **Tihai O**, Sprincean M, Hadjiu S, Racoviţa S, Litovcenco A, Barbova N, Revenco N. Metodă de diagnostic al polimorfismului în gena MTR2756 la mamele copiilor cu malformaţii congenitale cerebrale. Certificat de inovaţie Nr. 5988. 21 Feb. 2023.

25. **Tihai O**, Sprincean M, Hadjiu S, Racoviţa S, Litovcenco A, Barbova N, Revenco N. Metodă de diagnostic al polimorfismului în gena MTRR66 la mamele copiilor cu malformaţii congenitale cerebrale. Certificat de inovaţie Nr. 5989. 21 Feb. 2023.

26. **Tihai O**, Sprincean M, Hadjiu S, Racoviţa S, Litovcenco A, Barbova N, Revenco N. Estimarea riscului dezvoltării în ontogeneză a malformaţiilor congenitale cerebrale folat-dependente. Certificat de inovaţie Nr. 511. 21 Feb. 2023.

27. **Tihai O**, Sprincean M, Hadjiu S, Racoviţa S, Litovcenco A, Barbova N, Revenco N. Metodă de diagnostic al polimorfismului în gena MTHFR677 la mamele copiilor cu malformaţii congenitale cerebrale. Certificat de inovaţie Nr. 512. 21 Feb. 2023.

28. **Tihai O**, Sprincean M, Hadjiu S, Racoviţa S, Litovcenco A, Barbova N, Revenco N. Metodă de diagnostic al polimorfismului în gena MTHFR1298 la mamele copiilor cu malformaţii congenitale cerebrale. Certificat de inovaţie Nr. 513. 21 Feb. 2023.

Autor:

Secretar ştiinţific al Senatului,
dr. filos. Didina Nistreanu

29. **Tihai O**, Sprincean M, Hadjiu S, Racoviţa S, Litovcenco A, Barbova N, Revenco N. Metodă de diagnostic al polimorfismului în gena MTR2756 la mamele copiilor cu malformaţii congenitale cerebrale. Certificat de inovaţie Nr. 514. 21 Feb. 2023.

30. **Tihai O**, Sprincean M, Hadjiu S, Racoviţa S, Litovcenco A, Barbova N, Revenco N. Metodă de diagnostic al polimorfismului în gena MTRR66 la mamele copiilor cu malformaţii congenitale cerebrale. Certificat de inovaţie Nr. 515. 21 Feb. 2023.

- **Acte de implementare**

31. **Tihai O**, Sprincean M, Hadjiu S, Racoviţa S, Litovcenco A, Barbova N, Revenco N. Estimarea riscului dezvoltării în ontogeneză a malformaţiilor congenitale cerebrale folat-dependente. Act de implementare Nr. 16. 21 Feb. 2023.

32. **Tihai O**, Sprincean M, Hadjiu S, Racoviţa S, Litovcenco A, Barbova N, Revenco N. Estimarea riscului dezvoltării în ontogeneză a malformaţiilor congenitale cerebrale folat-dependente. Act de implementare Nr. 51. 21 Feb. 2023.

33. **Tihai O**, Sprincean M, Hadjiu S, Racoviţa S, Litovcenco A, Barbova N, Revenco N. Metodă de diagnostic al polimorfismului în gena MTHFR677 la mamele copiilor cu malformaţii congenitale cerebrale. Act de implementare Nr. 17. 21 Feb. 2023.

34. **Tihai O**, Sprincean M, Hadjiu S, Racoviţa S, Litovcenco A, Barbova N, Revenco N. Metodă de diagnostic al polimorfismului în gena MTHFR677 la mamele copiilor cu malformaţii congenitale cerebrale. Act de implementare Nr. 512. 21 Feb. 2023.

35. **Tihai O**, Sprincean M, Hadjiu S, Racoviţa S, Litovcenco A, Barbova N, Revenco N. Metodă de diagnostic al polimorfismului în gena MTHFR1298 la mamele copiilor cu malformaţii congenitale cerebrale. Act de implementare Nr. 18. 21 Feb. 2023.

36. **Tihai O**, Sprincean M, Hadjiu S, Racoviţa S, Litovcenco A, Barbova N, Revenco N. Metodă de diagnostic al polimorfismului în gena MTHFR1298 la mamele copiilor cu malformaţii congenitale cerebrale. Act de implementare Nr. 513. 21 Feb. 2023.

37. **Tihai O**, Sprincean M, Hadjiu S, Racoviţa S, Litovcenco A, Barbova N, Revenco N. Metodă de diagnostic al polimorfismului în gena MTR2756 la mamele copiilor cu malformaţii congenitale cerebrale. Act de implementare Nr. 19. 21 Feb. 2023.

38. **Tihai O**, Sprincean M, Hadjiu S, Racoviţa S, Litovcenco A, Barbova N, Revenco N. Metodă de diagnostic al polimorfismului în gena MTR2756 la mamele copiilor cu malformaţii congenitale cerebrale. Act de implementare Nr. 514. 21 Feb. 2023.

39. **Tihai O**, Sprincean M, Hadjiu S, Racoviţa S, Litovcenco A, Barbova N, Revenco N. Metodă de diagnostic al polimorfismului în gena MTRR66 la mamele copiilor cu malformaţii congenitale cerebrale. Act de implementare Nr. 20. din 21.02.2023. 21 Feb. 2023.

Autor:

Secretar ştiinţific al Senatului,
dr. filos. Didina Nistreanu

5

40. **Tihai O**, Sprincean M, Hadjiu S, Racoviţa S, Litovcenco A, Barbova N, Revenco N. Metodă de diagnostic al polimorfismului în gena MTRR66 la mamele copiilor cu malformaţii congenitale cerebrale. Act de implementare Nr. 515. 21 Feb. 2023.

- **Materiale la saloanele de invenţii**

41. **Tihai O**, Sprincean M, Hadjiu S, Revenco N. Method for determining the risk of developing folate-dependent cerebral congenital malformations in children. Salonul internaţional de invenţii şi inovaţii „Traian Vuia". Timişoara, România, 13-15 iunie 2024.

PARTICIPĂRI ACTIVE LA FORUMURI ŞTIINŢIFICE

- **Participări cu comunicări la forumuri ştiinţifice:**
  - ✓ **Internaţionale**

42. **Tihai O**, Hadjiu S, Călcîi C, Lupuşor N, Bejan N, Revenco N, Sprincean M. Unele aspecte ale malformaţiilor congenitale cerebrale la copii. Comunicarea prezentată la: Şcoala medicală pediatrică cu participare internaţională, 15-17 Mai 2018, Iaşi, România.

43. **Tihai O**, Hadjiu S, Sprincean M, Călcîi C, Lupuşor N, Bejan N, Revenco N. Malformaţiile congenitale cerebrale la copii: consideraţii clinico-genetice. Comunicarea prezentată la: A 40-a Conferinţă Naţională de Neurologie-Psihiatrie şi Profesiuni Asociate a Copilului şi Adolescentului din România cu participare internaţională, 21 Sept 2018, Predeal, România.

44. **Tihai O**, Sprincean M, Hadjiu S, Eţco L, Elena H, Racoviţă S, Barbova N, Bejan N, Secrieru V, Nour V, Ninel R. Diagnosticul prenatal şi postnatal în sarcinile cu risc de malformaţii congenitale cerebrale. Comunicarea prezentată la: A XXXIII-a ediţie a Conferinţei Naţionale „Zilele Pediatriei Ieşene", 13 - 15 Mai 2021, Iaşi, România.

45. **Tihai O**, Hadjiu S, Barbova N, Revenco N, Sprincean M. Factorii de risc al malformaţiilor congenitale cerebrale folat-dependente. Comunicarea prezentată la: Al XXI-lea Congres şi a 43-a Conferinţă naţională de Neurologie-Psihiatrie a copilului si adolescentului şi profesiuni asociate din România cu participare internaţională, 23 Sept. 2021.

46. **Tihai O**, Hadjiu S, Sprincean M, Barbova N, Egorov V, Revenco N. Polimorfismul genetic ciclului folat la mamele copiilor cu malformaţii congenitale cerebrale. Comunicarea prezentată la: Cel de-al XXII Congres SNPCAR şi a 44-a Conferinţă Naţională de Neurologie-Psihiatrie a Copilului şi Adolescentului şi Profesiuni Asociate din România cu participare internaţională, 24 Sept. 2022.

47. **Tihai O**, Sprincean M, Barbova N, Egorov V, Revenco N, Hadjiu S. Evoluţia şi prognosticul malformaţiilor congenitale ale sistemului nervos central. Caz clinic. Comunicarea prezentată la: Cel de-al XXIII Congres SNPCAR şi a 45-a Conferinţă Naţională de Neurologie-Psihiatrie a Copilului şi Adolescentului şi Profesiuni Asociate din România cu participare internaţională, 20-23 Sept 2023, Iaşi, România.

Autor:

Secretar ştiinţific al Senatului,
dr. filos. Didina Nistreanu

48. **Tihai O**, Sprincean M, Barbova N, Egorov, Halabudenco E, Călcîi C, Nadejda L, Revenco N, Groppa S, Hadjiu S. Evaluarea clinico-genetică postnatală a copiilor cu defecte ale tubului neural folat-dependente: caz clinic. Comunicarea prezentată la: Al VIII-a Congres Internaţional al Societăţii de Pediatrie din Republica Moldova„Pediatria – specialitate multidisciplinară", 06-08 Iun 2024, Chişinău, Moldova.

49. **Tihai O**, Sprincean M, Galbur V, Dumitraş A, Revenco N, Hadjiu S. Particularităţi genetice în malformaţiile congenitale ale sistemului nervos central. Prezentare de caz clinic. Comunicarea prezentată la: A 46-a Conferinţă Naţională de Neurologie-Psihiatrie a Copilului şi Adolescentului şi Profesiuni Asociate din România cu participare internaţională, 25-28 Sept 2024, Craiova, România.

✓ **naţionale cu participare internaţională**

50. **Tihai O**, Hadjiu S, Sprincean M, Natalia B, Racoviţă S, Egorov V, Revenco N. Impactul metabolismului acidul folic asupra dezvoltării malformaţiilor congenitale cerebrale la copii: efectul genotipului matern. Comunicarea prezentată la: Conferinţa naţională cu participare internaţională „Actualităţi în practica pediatrică: provocări şi succese", 16 Sept 2022, Chişinău, Moldova.

51. **Tihai O**, Sprincean M, Barbova N, Egorov V, Halabudenco E, Călcîi C, Lupuşor N, Revenco, Groppa S, Hadjiu S. Evaluarea clinico-genetică postnatală a copiilor cu defecte ale tubului neural folat-dependente: caz clinic. Comunicarea prezentată la: Al VIII-a Congres Internaţional al Societăţii de Pediatrie din Republica Moldova „Pediatria – specialitate multidisciplinară", 06-08 iunie 2024, Chişinău, Moldova.

✓ **naţionale**

52. **Tihai O**, Sprincean M, Racoviţă S, Barbova N, Halabudenco E, Egorov V, Călcâi C, Revenco N, Hadjiu S. Aspecte ale diagnosticului prenatal la fetuşii cu malformaţii congenitale cerebrale: prezentare de caz clinic. Comunicarea prezentată la: Simpozionul „Registrul maladiilor reumatice la copii: experienţa Republicii Moldova", 31 martie 2023, Chişinău, Moldova. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/196920

- **Participări cu postere la forumuri ştiinţifice:**

✓ **internaţionale**

53. **Tihai O**, Sprincean M, Revenco N, Lupusor N, Bejan N, Calcîi C, Hadjiu S. The clinical-genetic manifestation in tuberous sclerosis: case report. In: The 4th EAN Congress Neurology, 7-10 Oct 2018, Lisbon, Portugal.

54. **Tihai O**, Hadjiu S, Călcîi C, Lupuşor N, Bejan N, Revenco N, Sprîncean M. Unele aspecte ale malformaţiilor congenitale cerebrale la copii. In: Şcoala Medicală Pediatrică, ediţia a VI, 15-17 Mai 2018, Iaşi, România.

Autor:

Secretar ştiinţific al Senatului,
dr. filos. Didina Nistreanu

7

55. **Tihai O**, Sprincean M, Hadjiu S, Revenco N. Identification of genes involved in folic acid synthesic in mothers of children with congenital cerebral malformations. In: The 8th European Academy of Neurology congress, 25-28 June 2022, Vienna, Austria.

56. **Tihai O**, Mariana S, Hadjiu S, Barbova N, Egorov V, Revenco N. Identification of genes involved in folic acid synthesis in mothers of children with congenital cerebral malformations. In: The 14th World Stroke Congress, 26-29 Oct 2022, Singapore, Asia.

57. **Tihai O**, Hadjiu S, Sprincean M, Călcîi C, Lupuşor N, Grîu C, Cuznet L, Feghiu L, Revenco N. Identification of genes involved in folic acid synthesis in mothers of children with congenital cerebral malformations. In: The 9th EAN Congress, 1-4 iulie 2023, Budapest, Hungary.

58. **Tihai O**, Sprîncean M, Galbur V, Dumitraş A, Revenco N, Hadjiu S. Particuarităţi genetice în malformaţiile congenital ale sistemului nervos central. Prezentare de caz. In: A 46-a Conferinţă Naţională de Neurologie, Psihiatrie şi Profesiuni Asociate Copii şi Adolescenţi din România, 25-28 Sept 2024, Craiova, România.

✓ **naţionale**

59. **Tihai O**, Sprincean M. Prenatal diagnosis of congenital malformations of the brain in pregnancies with genetic risc. Comunicarea prezentată la: The 7th International Medical Congress for Students and Young Doctors MedEspera, 3-5 Mai 2018, Chişinău, Moldova. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/122997

60. Barbova N, Egorov V, **Tihai O**, Sprincean M, Halabudenco E. Frecvenţa malformaţiilor congenitale ale sistemului nervos central în Moldova, comparativ cu datele Registrului Internaţional EUROCAT. Comunicarea prezentată la: Conferinţa Ştiinţifică Anuală „Cercetarea în Biomedicină şi Sănătate: Calitate, Excelenţă şi Performanţă", 10-22 Oct 2021, Chişinău, Moldova. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/206455

61. **Tihai O**, Hadjiu S, Sprincean M, Călcîi C, Lupuşor N, Racoviţă S, Revenco N. Malformaţiile congenitale cerebrale la copiii cu accident vascular cerebral în Republica Moldova. Comunicarea prezentată la: Conferinţa Ştiinţifică Anuală „Cercetarea în Biomedicină şi Sănătate: Calitate, Excelenţă şi Performanţă", 18-20 Oct 2023, Chişinău, Moldova. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/195012

USMF „Nicolae Testemiţanu" confirmă
Semnătura Didina Nistreanu
Departament Resurse Umane

Autor:

Secretar ştiinţific al Senatului,
dr. filos. Didina Nistreanu

DECLARAȚIE

Prin prezenta, subsemnatul Tihai Olga declar pe propria răspundere că teza de doctor în științe medicale cu tema „Estimarea riscului dezvoltării în ontogeneză a malformațiilor congenitale ale sistemului nervos folat-dependente” este elaborată de către mine personal, materialele prezentate sunt rezultatele propriilor cercetări, nu sunt plagiate din alte lucrări științifice și nu a mai fost prezentată la o instituție de învățământ superior din țară sau străinătate.

De asemenea, declar că toate sursele utilizate, inclusiv din internet, sunt indicate în teza de doctorat cu respectarea regulilor de evitare a plagiatului:

- ✓ toate fragmentele de text reproduse exact, chiar și în traducere proprie din altă limbă, sunt scrise cu referința asupra sursei originale;
- ✓ reformularea în cuvinte proprii a textelor altor autori deține referința asupra sursei originale;
- ✓ rezumarea ideilor altor autori deține referința exactă la textul original;
- ✓ metodele și tehnicile de lucru preluate din alte surse dețin referințe exacte la sursele originale.

Data _____

Doctorand _____ _____

(Tihai Olga) (Semnătura)

Conducător de doctorat _____ _____

(Sprincean Mariana) (Semnătura)

ADNOTARE

Tihai Olga

„Estimarea riscului dezvoltării în ontogeneză a malformațiilor congenitale ale sistemului nervos folat-dependente”

Teză de doctor în științe medicale, Chișinău, 2025

Structura tezei. Teza este scrisă în limba română cu titlu de manuscris. Este expusă pe 211 de pagini și conține: introducere, 4 capitole (revista literaturii, materiale și metode de cercetare, rezultate obținute - în două capitole, discuții), concluzii generale și recomandări practice. Bibliografia include 228 de titluri. Lucrarea este ilustrată cu 11 tabele, 37 de figuri, 1 formulă și 18 anexe.**Cuvinte-cheie:** sistem nervos central, malformații ale sistemului nervos, defecte ale tubului neural, anencefalie, spină bifidă, sugar, deficit de acid folic, factori sociodemografici, factori de risc, polimorfism genetic

Domeniul de studiu: 322.01 – Pediatrie și neonatologie

Scopul lucrării. Evaluarea particularităților epidemiologice, etiologice și clinice ale malformațiilor congenitale ale sistemului nervos la populația pediatrică din Republica Moldova, în special ale formelor prevenibile prin suplimentare cu folat.

Obiectivele cercetării. Descrierea distribuției și a structurii malformațiilor congenitale ale sistemului nervos la copiii din Republica Moldova, pe baza datelor din Registrul Național al Malformațiilor Congenitale pentru perioada 2018-2023. Determinarea frecvenței malformațiilor congenitale ale sistemului nervos în Republica Moldova și compararea acesteia cu datele din rețeaua europeană EUROCAT pentru perioada 2018-2021. Evaluarea asocierii dintre factorii de risc pre- și postconcepționali, materni, paterni și de mediu și prezența malformațiilor congenitale ale sistemului nervos, cu evidențierea particularităților formelor susceptibile de prevenție prin suplimentare cu folat. Analiza variantelor de asociere între diferite forme ale malformațiilor congenitale ale sistemului nervos, inclusiv cu patologiile neurologice concomitente. Evaluarea frecvenței polimorfismelor uninucleotidice materne ale genelor implicate în metabolismul folatului (*MTHFR677, MTHFR1298, MTR2756, MTRR66*) și a asocierii acestora cu prezența și tipologia malformațiilor congenitale ale sistemului nervos, în special a formelor folat-dependente.

Noutatea și originalitatea științifică. Pentru prima dată în Republica Moldova a fost realizată o investigație cu design dual asupra malformațiilor congenitale ale sistemului nervos (MCSN), combinând analiza retrospectivă a datelor populaționale cu un studiu caz-control extins privind expresia factorilor de risc. Studiul a evidențiat o tendință semnificativă statistic de scădere a incidenței MCSN și a formelor folat-prevenibile (FMCSN) în perioada 2018-2023, oferind primele dovezi naționale privind dinamica temporală a acestora. În comparație cu datele registrelor EUROCAT, cercetarea a documentat un profil diferențiat al distribuției subtipurilor clinice, cu o pondere mai mare a anomaliilor structurale cerebrale și a hidrocefaliei în Republica Moldova. Totodată, s-a constatat o asociere pronunțată între lipsa suplimentării periconcepționale cu acid folic și apariția FMCSN (93% din cazuri). De asemenea, a fost determinată o ierarhie a factorilor de risc materni, paterni și prenatali, precum și gradul de asociere a acestora cu MCSN în populația studiată, fiind identificați factori cu impact potențial major: agenți infecțioși (complexul TORCH, citomegalovirus), vicii comportamentale (tabagism, consum de alcool și/sau droguri), statusul de sănătate parental (diabet, hipertensiune arterială, supraponderalitate), utilizarea medicației și expunerea la noxe în perioada intrauterină. Cercetarea a evidențiat particularități relevante privind expresia clinică a MCSN, tendințele de coasociere între diferite forme (clustere), precum și corelații semnificative între subtipurile clinice și patologiile neurologice asociate, consolidând astfel perspectiva unei abordări integrative și diferențiate a acestor entități patologice. Pentru prima dată în context regional au fost demonstrate diferențe semnificative în distribuția variantelor genotipice ale genelor *MTHFR677, MTHFR1298, MTR2756* și *MTRR66* între mamele copiilor cu MCSN și cele din lotul de control, cu asocieri specifice între anumite genotipuri și riscul de FMCSN (OR între 2,18 și 6,78).

Implementarea rezultatelor științifice. Rezultatele cercetărilor științifice au fost implementate în procesul de cercetare, în activitatea metodologică și clinică în Departamentul *Pediatrie* al IP USMF „Nicolae Testemițanu”, în Clinica de Neurologie Pediatrică a Departamentului *Pediatrie* IP „Nicolae Testemițanu” din IMSP Institutul Mamei și Copilului.

ANNOTATION

Olga Tihai

"Risk Assessment of the Development of Folate-Dependent Congenital Malformations of the Nervous System During Ontogenesis"

Doctoral thesis in medical sciences, Chisinau, 2025

Thesis structure. The thesis is written in Romanian as a manuscript. It is presented on 211 pages and contains: introduction, 4 chapters (literature review, research materials and methods, results obtained – in two chapters, discussions), general conclusions and practical recommendations. The bibliography includes 228 titles. The work is illustrated with 11 tables, 37 figures, 1 formula and 18 annexes.

Keywords: central nervous system, congenital nervous system malformations, neural tube defects, anencephaly, spina bifida, infant, folate deficiency, sociodemographic factors, risk factors, genetic polymorphism.

Field of study: 322.01 – Pediatrics and Neonatology

The purpose of the work: To evaluate the epidemiological, etiological, and clinical characteristics of congenital nervous system malformations (CNSM) in the pediatric population of the Republic of Moldova, with a particular focus on folate-preventable forms.

Research objectives. To describe the distribution and structure of congenital nervous system malformations in children in the Republic of Moldova based on data from the National Registry of Congenital Malformations for the period 2018–2023. To determine the frequency of congenital nervous system malformations in the Republic of Moldova and compare it with data from the European EUROCAT network for the period 2018–2021. To assess the association between pre- and postconceptional, maternal, paternal, and environmental risk factors and the presence of congenital nervous system malformations, particularly for the folate-preventable forms. To analyze the patterns of association between various types of nervous system malformations, as well with comorbid neurological pathologies. To evaluate the frequency of maternal single-nucleotide polymorphisms in genes involved in folate metabolism (*MTHFR677*, *MTHFR1298*, *MTR2756*, *MTRR66*) and their association with the presence and type of congenital nervous system malformations, especially folate-dependent forms.

Scientific novelty and originality. For the first time in the Republic of Moldova, a dual-design study was conducted on congenital malformations of the nervous system (CNSM), combining retrospective population-based analysis with an extended case-control study focused on risk factor expression. The research revealed a statistically significant downward trend in the incidence of both overall CNSM and folate-preventable forms (FCNSM) during 2018–2023, offering the first national data on their temporal dynamics. Compared to EUROCAT data, the study documented a distinct distribution profile of clinical subtypes, with a higher proportion of cerebral structural anomalies and hydrocephalus in Moldova. A strong association was found between the absence of periconceptional folic acid supplementation and the occurrence of FCNSM (in 93% of cases). The study also established a risk hierarchy of maternal, paternal, and prenatal factors and quantified their associations with CNSM in the study population. Major contributing factors identified include infectious agents (TORCH complex, cytomegalovirus), behavioral risk factors (smoking, alcohol, drug use), parental health status (diabetes, hypertension, overweight), medication use, and toxic exposure during gestation. The study highlighted clinically relevant patterns in the expression of CNSM, co-association trends (clusters), and statistically significant correlations between clinical subtypes and associated neurological disorders – supporting a differentiated, integrative clinical approach. For the first time in a regional context, significant differences were demonstrated in the distribution of genotypic variants of the *MTHFR677*, *MTHFR1298*, *MTR2756*, and *MTRR66* genes between mothers of affected children and control subjects, with specific associations between certain genotypes and increased risk of FCNSM (OR range: 2.18–6.78).

Implementation of scientific results. The results of this research have been implemented in scientific, methodological, and clinical activities at the Department of Pediatrics, Nicolae Testemițanu State University of Medicine and Pharmacy, and in the Pediatric Neurology Clinic of the Department of Pediatrics at the IMSP Mother and Child Institute.

CV-UL AUTORULUI

europass

Olga Tihai

Muncă : str. Grenoble 149, MD-2004, Chishinau, Moldova

E-mail: olgatihai@mail.ru **Telefon:** (+373) 022455172

Gen: Feminin **Data naşterii:** 15/05/1988 **Cetăţenie:** moldoveană

EDUCAŢIE ŞI FORMARE PROFESIONALĂ

[2022 – În curs] **Secundariat clinic Gastroenterologie pediatrică**

Universitatea de Stat de Medicina și Farmacie "Nicolae Testemițanu" din Republica Moldova usmf.md

Localitatea: Chişinau | **Ţara:** Moldova |

[2017 – În curs] **Student-doctorand, studii superioare, postuniversitare**

Universitatea de Stat de Medicina și Farmacie "Nicolae Testemițanu" din Republica Moldova usmf.md

Localitatea: Chişinau | **Ţara:** Moldova |

[2017 – 2021] **Medic-rezident Specialitate Pediatrie**

Universitatea de Stat de Medicina și Farmacie "Nicolae Testemițanu" din Republica Moldova usmf.md

Localitatea: Chişinau | **Ţara:** Moldova |

[2007 – 2013] **Medicina generală**

Universitatea de Stat de Medicina și Farmacie "Nicolae Testemițanu" din Republica Moldova usmf.md

Localitatea: Chişinau | **Ţara:** Moldova |

[2004 – 2007] **Asistent medical, specialitatea Îngrijirea bolnavilor**

Centrul de Excelență în Medicină și Farmacie ,,Raisa Pacalo" cemf.md

Localitatea: Chişinau | **Ţara:** Moldova |

[1995 – 2004] **Absolventă**

Liceului Teoretic "Matei Basarab"

Localitatea: Chişinau | **Ţara:** Moldova |

EXPERIENŢA PROFESIONALĂ

[2018 – În curs] **Medic pediatru**

IMSP Spitalul Clinic Municipal de Copii "Valentin Ignatenco"

Localitatea: Chișinău | **Ţara:** Moldova

[2018 – În curs] **Medic pediatru**

Medpark International Hospital

Localitatea: Chișinău | **Ţara:** Moldova

[2022 – 2023] **Profesor în învățământul profesional: pediatria**

Centrul de Excelență în Medicină și Farmacie ,,Raisa Pacalo"

Localitatea: Chișinău | **Ţara:** Moldova

CONFERINŢE ŞI SEMINARE

[14/05/2022 – 07/06/2022] **Instruirea profesională în cadrul unității de gastroenterologie, hepatologie și nutriție**

Spitalul Universitar Maribor, Departamentul de Pediatrie, Slovenia

[17/02/2022 – 07/03/2022] **Curs postuniversitar de educatia medicală continuă "Gastroenterologie pediatrica"** Chișinău

[18/01/2021 – 03/02/2021] **Curs postuniversitar de educatia medicală continuă "Genetica medicală"** Chișinău

[03/05/2018 – 10/05/2018] **Instruirea în cadrul Școlii Medicale Pediatrice cu participerea internațională, ediția a VI-a**
Iași, România

PROIECTE

[2022 – 2023] **Proiectul ENI PP13 CD SKILLS Interreg Danube Transnational Programme**

[2020 – 2023] **Elaborarea metodelor inedite de diagnostic precoce al maladiilor imunodeficitare in baza studiului clinico imunologic și molecular genetic al pacienților cu suspecție la munodeficiențe primare**

DISTINCȚII ONORIFICE ȘI PREMII

[13/06/2024] **Gold medal for the invention and inovation Instituția emitentă:** Salonul Internațional de Invenții și Inovații ,,TRAIAN VUIA" Timișoara, ediția a X-a

Method for determining the risk of developing folate-dependent cerebral congenital malformations in children

COMPETENȚE LINGVISTICE

Limbă(i) maternă(e): Română

Altă limbă (Alte limbi):

Rusă

COMPREHENSIUNE ORALĂ C1 **CITIT** C1 **SCRIS** C1

EXPRIMARE SCRISĂ C1 **CONVERSAȚIE** C1

Engleză

COMPREHENSIUNE ORALĂ B2 **CITIT** B2 **SCRIS** B2

EXPRIMARE SCRISĂ B2 **CONVERSAȚIE** B2

Niveluri: A1 și A2 Utilizator de bază B1 și B2 Utilizator independent C1 și C2 Utilizator experimentat

COMPETENȚE DIGITALE

Competențele mele digitale

Navigare Internet | Microsoft Office (Excel PowerPoint Word) - nivel intermediar | Social Media

PUBLICAȚII

Autor a peste 70 de publicații: naționale și internaționale, prezentate sub formă de articole, rezumate, teze.

REȚELE ȘI AFILIERI

ORCID - https://orcid.org/0009-0008-9239-7290