

ARTICOLE ORIGINALE

Natalia Uşurelu  
INTRODUCERE  
ÎN ERORI ÎNNĂSCUTE  
DE METABOLISM

Adela Stamatî, Natalia Uşurelu,  
Lilia Romanciuc, Ninel Revenco  
AFECTĂRILE CARDIOVASCULARE  
ÎN BOALA FABRY

Daniela Blăniţă, Chiril Boiciuc, Elena Samohvalov,  
Victoria Sacară, Natalia Barbova, Svetlana Hadjiu,  
Valentin Ţurea, Adela Stamatî, Alina Nicolescu,  
Călin Deleanu, Dirk Lefeber, Eva Morava,  
Natalia Uşurelu  
PROVOCĂRI ÎN CONSIDERAŢIUNI CLINICE  
PRIVIND DIAGNOSTICUL DEREGLĂRILOR  
CONGENITALE ALE GLICOZILĂRII

INSTITUTUL  
MAMEI ŞI COPILULUI

SOCIETATEA DE PEDIATRIE  
DIN REPUBLICA MOLDOVA



# BULETIN DE PERINATOLOGIE

REVISTĂ ŞTIINŢIFICO-PRACTICĂ

## PERINATOLOGY BULLETIN

JOURNAL OF RESEARCH AND PRACTICE



MINISTERUL  
SĂNĂTĂŢII, MUNCII ŞI  
PROTECŢIEI SOCIALE AL  
REPUBLICII MOLDOVA

1 (86)  
2020

# VIAȚA POATE FI DIN NOU COLORATĂ!

ENDOMETRIOZA?!  
DURERI PELVINE?!  
SÂNGERARE  
MENSTRUALĂ  
ABUNDENTĂ?!



**Sawis**<sup>®</sup>  
2mg dienogest

**DENUMIREA COMERCIALĂ A MEDICAMENTULUI:** Sawis 2 mg comprimate. **COMPOZIȚIA CALITATIVĂ ȘI CANTITATIVĂ:** Fiecare comprimat conține dienogest 2 mg. **FORMA FARMACEUTICĂ:** Comprimate. **Indicații terapeutice:** Tratatamentul endometriozei. **Doze și mod de administrare:** Doza de Sawis este de un comprimat zilnic fără nici o pauză, administrat de preferință la aceeași oră în fiecare zi, cu puțin lichid, după necesitate. Comprimatul poate fi luat cu sau fără alimente. Comprimatele trebuie administrate în mod continuu, indiferent de sângerarea vaginală. Când s-a terminat un pachet, următorul trebuie început fără întrerupere. Nu există experiență în ceea ce privește tratamentul cu Sawis pe o perioadă mai mult de 15 luni la pacientele cu endometrioză. Tratatamentul poate fi început în orice zi a ciclului menstrual. Orice contracepție hormonală trebuie oprită înainte de inițierea tratamentului cu Sawis. Dacă contracepția este necesară, trebuie folosite metode contraceptive non-hormonale (de exemplu metoda de barieră). Pentru administrare orală. **Contraindicații:** Sawis nu trebuie utilizat în cazul prezenței oricăreia dintre condițiile enumerate mai jos, care rezultă parțial din informațiile privind alte medicamente care conțin numai progesteron. Dacă oricare dintre aceste afecțiuni apare în timpul utilizării Sawis, tratamentul trebuie întrerupt imediat: boală venoasă tromboembolică în desfășurare; boală arterială și cardiovasculară, în antecedente sau în prezent (de exemplu, infarct miocardic, accident vascular cerebral, cardiopatie ischemică); diabet zaharat cu implicații vasculare; boală hepatică severă prezentă sau în antecedente, atât timp cât valorile funcției hepatice nu au revenit la normal; tumori hepatice (benigne sau maligne) prezente sau în antecedente; tumori maligne sensibile la hormoni sexuali, diagnosticate sau suspectate; hemoragii vaginale nedidagnosticate; hipersensibilitate la substanța activă sau la oricare dintre excipienții. **ATENȚIONĂRI ȘI PRECAUȚII SPECIALE PENTRU UTILIZARE** Hemoragii uterine grave: Dacă hemoragia este abundentă și continuă în timp, poate duce la anemie (severă în unele cazuri). În cazul apariției anemiei trebuie luată în considerare întreruperea tratamentului cu Sawis. **Modificări ale caracteristicilor sângerării: Tulburări circulatorii:** Din studiile epidemiologice există puține dovezi pentru o asociere între medicamentele care conțin numai progesterogen și un risc crescut de infarct miocardic sau tromboembolism cerebral. Riscul evenimentelor cardiovasculare și cerebrale este legat de creșterea vârstei, hipertensiunea arterială și fumat. La femeile cu hipertensiune arterială, riscul accidentului vascular cerebral poate fi ușor crescut de medicamentele care conțin numai progesterogen. **Tumori:** O meta-analiză a 54 studii

epidemiologice a raportat o creștere ușoară a riscului relativ (RR=1,24) de cancer mamar diagnosticat la femeile care utilizează contraceptive orale (CO) în mod curent, în special prin utilizarea medicamentelor cu estrogen-progesteron. Riscul crescut dispare treptat pe parcurs de 10 ani de la încetarea utilizării contraceptivelor orale combinate (COC). Deoarece cancerul mamar este rar la femeile cu vârsta sub 40 ani, numărul crescut de cazuri de cancer mamar diagnosticat la femeile care utilizează în mod curent sau care au utilizat recent COC este mic în raport cu riscul general de cancer de sân. **Osteoporoza:** Modificări în densitatea minerală osoasă (DMO). **REAȚII ADVERSE:** Prezentarea reacțiilor adverse are la bază MedDRA. Este utilizat cel mai potrivit termen MedDRA pentru a descrie o anumită reacție, simptomele și condițiile legate de acesta. Reacțiile adverse sunt mai frecvente în timpul primelor luni după începerea tratamentului cu dienogest de 2 mg comprimate și dispar pe măsura continuării tratamentului. Pot exista modificări ale caracteristicilor sângerărilor, cum sunt hemoragiile intermenstruale, sângerări neregulate sau amenoree. Următoarele reacții adverse au fost raportate la utilizatorii comprimatului de dienogest 2 mg. Reacțiile adverse raportate cel mai frecvent în cazul tratamentului cu dienogest comprimat de 2 mg sunt dureri de cap (9,0%), disconfort mamar (5,4%), stare depresivă (5,1%) și acnee (5,1%). În plus, majoritatea pacientelor tratate cu dienogest comprimate de 2 mg au prezentat modificări ale caracteristicilor sângerărilor menstruale. Caracteristicile sângerărilor menstruale au fost evaluate sistematic, folosind jumalele pacientelor și au fost analizate prin metoda OMS privind perioada de referință de 90 zile. În primele 90 zile de tratament cu dienogest comprimate de 2 mg, s-au observat următoarele caracteristici ale sângerărilor (n=290; 100%): amenoree (1,7%), sângerări rare (27,2%), sângerare frecventă (13,4%), sângerare neregulată (35,2%), sângerare prelungită (38,3%), sângerare normală, adică niciuna din categoriile anterioare (19,7%). Pe parcursul celei de-a patra perioadă de referință, au fost observate următoarele caracteristici ale sângerărilor (n=149; 100%): amenoree (28,2%), sângerare rară (24,2%), sângerare frecventă (2,7%), sângerare neregulată (21,5%), sângerare prelungită (4,0%), sângerare normală, adică niciuna din categoriile anterioare (22,8%). **NUMĂRUL CERTIFICATULUI DE ÎNREGISTRARE:** 26109. **DATA AUTORIZĂRII:** 09.04.2020; **DATA REVIZUIRII TEXTULUI:** Aprilie 2020. **Statutul legal:** Cu prescripție medicală

Acest material publicitar este destinat persoanelor calificate să prescrie, să distribuie și/sau să elibereze medicamente. Pentru informații complete vă rugăm să consultați rezumatul caracteristicilor produsului. Informații detaliate privind acest medicament sunt disponibile pe site-ul Agenției Medicamentului <http://nomenclator.amdm.gov.md/>



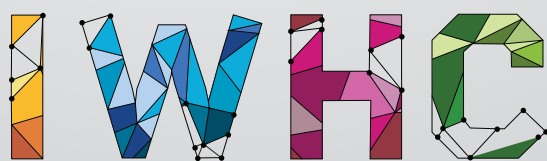
# Donasert®

Sistem cu cedare intrauterină cu Levonorgestrel  
20 micrograme/24 ore

## Sunt stăpâna dorințelor mele

**DENUMIREA COMERCIALĂ A MEDICAMENTULUI:** DONASERT 20 micrograme/24 ore sistem cu cedare intrauterină. **COMPOZIȚIA CALITATIVĂ ȘI CANTITATIVĂ:** Substanța activă este levonorgestrel. Sistemul cu cedare intrauterină conține levonorgestrel 52 mg. Eliberarea inițială de levonorgestrel este de aproximativ 20 micrograme pe zi, reducându-se la aproximativ 12 micrograme pe zi după 3 ani. **FORMA FARMACEUTICĂ:** Sistem cu cedare intrauterină de levonorgestrel (SIU). **Indicații terapeutice:** Contracepție. Tratamentul sângerării menstruale abundente. **Doze și mod de administrare:** *Inițiere tratamentului:* La femeile de vârstă fertilă, Donasert este inserat în interiorul cavității uterine în decurs de șapte zile de la debutul menstruației. *Inserția postpartum:* Pentru a reduce riscul de perforație, inserțiile postpartum trebuie amânate până când uterul este retras complet. Nu inserați mai devreme de șase săptămâni după naștere. De asemenea, Donasert poate fi inserat imediat după avort în primul trimestru. Donasert este eficient timp de patru ani în indicațiile pentru contracepție și sângerare menstruală abundentă. Ca urmare, trebuie extras după 4 ani de utilizare. *Copii și adolescenți:* Donasert nu a fost studiat la pacienți cu vârsta sub 16 ani. Donasert nu trebuie utilizat înainte de instalarea menarhei. **Insuficiență hepatică:** Donasert este contraindicat la paciențele cu tumori hepatice sau cu alte afecțiuni hepatice acute sau severe. **Instrucțiuni pentru utilizare și manipulare:** Donasert este furnizat într-un ambalaj steril care nu poate fi deschis până este necesar pentru inserție. Produsul expus trebuie manipulat cu precauții privind asepsia. *Cum se inserază Donasert:* Este ferm recomandată ca Donasert să fie inserat doar de către medic sau profesionalist în domeniul sănătății care au experiență în inserțiile de SIU cu levonorgestrel și/sau au fost instruiți suficient în privința inserției SIU cu levonorgestrel. *Cum să extrageți Donasert:* Donasert este extras prin tragerea cu blândețe de fire cu ajutorul forțepusului. Dacă firele nu sunt vizibile și dispozitivul este în cavitatea uterină, el poate fi extras utilizând un tenaculum îngust. Este posibil ca acest lucru să solicite dilatarea canalului cervical. Dacă nu se dorește apariția unei sarcini, extragerea trebuie efectuată în timpul menstruației la femeile de vârstă fertilă, dacă aceasta există. Dacă sistemul este extras la mijlocul perioadei ciclului menstrual și femeia a avut contact sexual în interval de o săptămână, există riscul apariției unei sarcini, dacă nu se inseră un sistem nou imediat după extragerea celui anterior. După extragerea Donasert, dispozitivul trebuie verificat pentru a se asigura că este intact. În timpul extragerii dificile, au fost raportate cazuri unice de alunecare a cilindriului cu hormon peste brațele orizontale și ascunderea lor împreună în interiorul cilindriului. Această situație nu necesită intervenție ulterioară odată ce s-a constatat că SIU este complet. De obicei, prominențele brațelor orizontale previn detașarea completă a cilindriului de corpul T. **Contraindicații:** Sarcină cunoscută sau suspectată; Boală inflamatorie pelvină actuală sau recurentă; Infecție la nivelul tractului genital inferior; Endometrită postpartum; Avort cu complicații infecțioase în ultimele trei luni; Cervicită, displazie cervicală; Neoplazii uterine sau cervicale suspectate sau confirmate; Tumoră hepatică sau altă boală hepatică acută sau severă; Anomalii uterine congenitale sau dobândite, inclusiv fibroame, dacă deformează cavitatea uterină; Sângerări uterine anormale de etiologie neprecizată; Afecțiuni asociate cu susceptibilitate crescută la infecții; Tumori dependente de hormoni în prezent sau suspectate, cum este neoplasmul mamar; Neoplazii acute care afectează sângele sau leucemii, cu excepția perioadelor de remisiune; Boală trofoblastică recentă cu niveluri constante mărite de hCG; Hipersensibilitate la substanța activă sau la oricare dintre excipienți. **Atenționări și precauții speciale pentru utilizare:** Donasert poate fi utilizat cu precauție după consultul de specialitate sau trebuie avută în vedere extragerea sistemului, dacă oricare dintre următoarele afecțiuni există sau apare pentru prima dată în timpul tratamentului: Migrenă, migrenă focală cu pierdere de vedere asimetrică sau alte simptome sugestive pentru ischemie cerebrală tranzitorie. Cefalee neobișnuit de severă sau neobișnuit de frecventă. Icter. Creșterea marcată a tensiunii arteriale. Neoplazii care afectează sângele sau leucemii în remisiune. Utilizarea tratamentului corticosteroidian cronic. Antecedente de chisturi ovariene funcționale simptomatice. Boala arterială severă activă sau în antecedente, cum sunt accidentul vascular cerebral sau infarctul miocardic. Factori de risc severi sau mulți pentru afecțiune arterială. Afecțiune trombotică arterială sau orice afecțiune embolică în prezent. Tromboembolism venos acut. Donasert poate fi utilizat cu precauție la femeile cu cardiopatii congenitale sau cu valvulopatii cu risc de endocardită infecțioasă. Sângerările neregulate pot masca unele simptome și semne ale polipilor sau tumorilor maligne de la nivelul endometriului, și, în aceste cazuri, trebuie luate în considerare măsuri diagnostice. În general, femeile care utilizează Donasert trebuie să fie încurajate să întrerupă fumatul. **Fertilitatea, sarcina și alăptarea:** Sarcina: Donasert nu trebuie utilizat în timpul unei sarcini existente sau suspectate. Alăptarea: Levonorgestrelul se elimină în cantități foarte mici în laptele matern după utilizarea SIU cu levonorgestrel. Deoarece nu este de așteptat niciun risc pentru copil, poate fi continuată alăptarea în timpul utilizării Donasert. Sângerarea uterină a fost raportată rar la femei care utilizează SIU cu levonorgestrel în timpul alăptării. Fertilitatea: Utilizarea de SIU cu levonorgestrel nu schimbă cursul fertilității feminine după extragerea SIU. **Reacții adverse:** Reacțiile adverse sunt mai frecvente în timpul primelor luni după inserție și descreșc în timpul utilizării prelungite. Reacții adverse foarte frecvente (care apar la mai mult de 10% dintre utilizatoare) includ sângerări uterine/vaginale înzudând puțin, oligomenoree, amenoree și chisturi ovariene benigne. Frecvența chisturilor ovariene benigne depinde de metoda de diagnosticare utilizată și, în studii clinice, au fost diagnosticate foliculi mari la 12% dintre subiecții care utilizează un SIU cu levonorgestrel. Majoritatea foliculilor sunt asimptomatice și dispar în decurs de trei luni. **Precauții speciale pentru păstrare:** A se păstra în ambalajul original. A se păstra blisterul în cutie pentru a fi protejat de lumină. **Natura și conținutul ambalajului:** SIU Donasert este ambalat individual împreună cu dispozitivul inseror într-un blister termofomat (poliester) cu un capac detașabil (TYVEK-Polietilenă). **NUMĂRUL CERTIFICATULUI DE ÎNREGISTRARE:** 25380. **DATA AUTORIZĂRII:** 06.03.2019. **DATA REVIZUIRII TEXTULUI:** Martie 2019. **Statutul legal:** Cu prescripție medicală. **Acest material publicitar este destinat persoanelor calificate să prescrie, să distribuie și/sau să elibereze medicamente. Pentru informații complete vă rugăm să consultați rezumatul caracteristicilor produsului. Informații detaliate privind acest medicament sunt disponibile pe site-ul Agenției Medicamentului <http://www.amdm.gov.md>**

**Gedeon Richter**  
expert în domeniul  
sănătății femeii



INTERNATIONAL WOMEN'S HEALTHCARE



GEDEON RICHTER

# BULETIN DE PERINATOLOGIE

# PERINATOLOGY BULLETIN

REVISTĂ ȘTIINȚIFICO-PRACTICĂ

JOURNAL OF RESEARCH AND PRACTICE

FONDATĂ, ÎN 1998

REPUBLICA MOLDOVA, CHIȘINĂU ISSN 1810-5289

## CUPRINS

## CONTENTS

JUBILEU	JUBILEE
Ninel Revenco OMUL, PEDIATRUL, SAVANTUL, PROFESORUL, MANAGERUL	Ninel Revenco HUMAN, PEDIATRICIAN, SCIENTIST, PROFESSOR, MANAGER
Ludmila Ețco PROFESOR, PERSONALITATE DE PRESTIGIU A ȘTIINȚEI MEDICALE, OMAGIATĂ LA ÎMPLINIREA VĂRSTEI DE 75 DE ANI ARTICOLE ORIGINALE	Ludmila Ețco THE PROFESSOR, A PRESTIGIOUS PERSONALITY IN MEDICAL SCIENCE, WE CONGRATULATE YOU ON YOUR 75 <sup>TH</sup> BIRTHDAY ORIGINAL ARTICLES
Natalia Ușurelu INTRODUCERE ÎN ERORI ÎNNĂSCUTE DE METABOLISM	Natalia Ușurelu INTRODUCTION INTO INBORN ERRORS OF METABOLISM
Adela Stamati, Natalia Ușurelu, Lilia Romanciuc, Ninel Revenco AFECTĂRILE CARDIOVASCULARE ÎN BOALA FABRY	Adela Stamati, Natalia Ușurelu, Lilia Romanciuc, Ninel Revenco CARDIOVASCULAR DISORDERS IN FABRY DISEASE
Daniela Blăniță, Chiril Boiciuc, Elena Samohvalov, Victoria Sacară, Natalia Barbova, Svetlana Hadjiu, Valentin Țurea, Adela Stamati, Alina Nicolescu, Călin Deleanu, Dirk Lefeber, Eva Morava, Natalia Ușurelu PROVOCĂRI ÎN CONSIDERAȚIUNI CLINICE PRIVIND DIAGNOSTICUL DEREGLĂRILOR CONGENITALE ALE GLICOZILĂRII	Daniela Blanita, Chiril Boiciuc, Elena Samohvalov, Victoria Sacara, Natalia Barbova, Svetlana Hadjiu, Valentin Țurea, Adela Stamati, Alina Nicolescu, Calin Deleanu, Dirk Lefeber, Eva Morava, Natalia Ușurelu CHALLENGES IN CLINICAL CONSIDERATIONS FOR CONGENITAL DISORDERS OF GLYCOSYLATION
Chiril Boiciuc, Daniela Blăniță, Elena Samohvalov, Olga Tagadiuc, Alina Nicolescu, Călin Deleanu, Ron Wevers, Karin Huijben, Dirk Lefeber, Natalia Ușurelu CARACTERISTICILE DIAGNOSTICULUI DEREGLĂRILOR CONGENITALE ALE GLICOZILĂRII LA 40 DE PACIENȚI SUSPECȚI DIN MOLDOVA	Chiril Boiciuc, Daniela Blanita, Elena Samohvalov, Olga Tagadiuc, Alina Nicolescu, Calin Deleanu, Ron Wevers, Karin Huijben, Dirk Lefeber, Natalia Ușurelu DIAGNOSIS CHARACTERISTICS OF CONGENITAL DISORDERS OF GLYCOSYLATION OF 40 SUSPECTED PATIENTS FROM MOLDOVA
Doina Țurcan, Daniela Blăniță, Natalia Ușurelu, Victoria Sacară ABORDĂRI METODOLOGICE ÎN ANALIZA MOLECULAR-GENETICĂ A ADN-ULUI MITOCONDRIAL LA PACIENȚII CU SIMPTOMATOLOGIA CARACTERISTICĂ DEREGLĂRILOR MITOCONDRIALE	Doina Țurcan, Daniela Blanita, Natalia Ușurelu, Victoria Sacara METHODOLOGICAL APPROACHES IN THE MOLECULAR GENETIC ANALYSIS OF MITOCHONDRIAL DNA IN PATIENTS WITH COMMON CLINICAL FEATURES OF MITOCHONDRIAL DISEASE
Maria Scurtu, Chiril Boiciuc, Daniela Blăniță, Victoria Sacară, Natalia Ușurelu PREDICȚIA FENOTIPULUI LA PACIENȚII CU FENILKETONURIE DIN MOLDOVA ÎN BAZA GENOTIPULUI	Maria Scurtu, Chiril Boiciuc, Daniela Blanita, Victoria Sacara, Natalia Ușurelu PHENOTYPE PREDICTION IN PHENYLKETONURIA PATIENTS FROM MOLDOVA BASED ON GENOTYPE DATA
Iulia Coliban, Ninel Revenco, Doina Țurcan, Vladimir Egorov, Natalia Ușurelu, Victoria Sacară ATROFIA MUSCULARĂ SPINALĂ: NOUTĂȚI ȘI PERSPECTIVE	Iulia Coliban, Ninel Revenco, Doina Țurcan, Vladimir Egorov, Natalia Ușurelu, Victoria Sacara SPINAL MUSCULAR ATROPHY: NEWS AND PERSPECTIVES
Diana Hovanscaia, Anatolie Serbenco, Stanislav Groppa COMPLICAȚIILE OBSTETRICALE LA GRAVIDELE CU EPILEPSIE	Diana Hovanscaia, Anatolie Serbenco, Stanislav Groppa OBSTETRICAL COMPLICATIONS IN GRAVIDES WITH EPILEPSY
Diana Hovanscaia, Anatolie Serbenco, Stanislav Groppa COMPLICAȚIILE FETALE LA GRAVIDELE CU EPILEPSIE	Diana Hovanscaia, Anatolie Serbenco, Stanislav Groppa FETAL COMPLICATIONS IN PREGNANT EPILEPTIC WOMEN
Ana Mișina, Patricia Harea, Diana Madan, Vergil Petrovici, Corina Șcerbatiuc-Condur, Igor Mișin LIPOMUL VULVAR: ANALIZA A ȘAPTE CAZURI CONSECUTIVE	Ana Misina, Patricia Harea, Diana Madan, Vergil Petrovici, Corina Șcerbatiuc-Condur, Igor Mișin LIPOMA OF THE VULVA: ANALYSIS OF SEVEN CONSECUTIVE CASES

- Corina Șcerbatiuc-Condur, Elina Șor, Ana Mișina, Igor Mișin** 58 **Corina Șcerbatiuc-Condur, Elina Sor, Ana Misina, Igor Misin**  
ENDOMETRIOZA HEPATOBILIARĂ. HEPATOBILIARY ENDOMETRIOSIS
- Silvia Agop** 66 **Silvia Agop**  
REZULTATELE VACCINĂRII ANTI HPV THE RESULTS OF HPV VACCINATION  
ÎN REPUBLICA MOLDOVA IN THE REPUBLIC OF MOLDOVA
- Silvia Agop** 69 **Silvia Agop**  
TRATAMENTUL ORGANOMENAJANT LA LĂUZELE CU ORGANOMENAGING TREATMENT  
COMPLICAȚII PUERPERAL-SEPTICE DUPĂ OPERAȚIE OF POSTPARTUM WOMAN WITH PUERPERAL-SEPTIC  
CEZARIANĂ COMPLICATIONS AFTER CEZARARIAN OPERATION
- Hristiana Capros** 74 **Hristiana Capros**  
RESTRICTIA DE CREȘTERE FETALĂ. FETAL GROWTH RESTRICTION.  
ACTUALITĂȚI DE DIAGNOSTIC DIAGNOSTIC NEWS
- Iurie Dondiuc, Andriana Marian, Gheorghe Caliga** 81 **Iurie Dondiuc, Andriana Marian, Gheorghe Caliga**  
PREGĂTIREA PSIHOPROFILACTICĂ ANTENATALĂ - IMPACT ȘI BENEFICII ANTENATAL TRAINING - IMPACT AND BENEFITS
- Angela Marian-Pavlenco, Olga Suparskaia, Buqa'i Sameh** 86 **Angela Marian-Pavlenco, Olga Suparskaia, Buqa'i Sameh**  
MANAGEMENTUL SARCINII ECTOPICE MANAGEMENT OF ECTOPIC PREGNANCY  
REVIUL LITERATURII REVIEW LITERATURE
- Valeriu Pădure, Igor Opalco** 94 **Valeriu Padure, Igor Opalco**  
IMPACTUL BOLILOR NETRANSMISIBILE THE IMPACT OF NON-TRANSMISSIBLE  
ASUPRA NAȘTERII PREMATURE DISEASES ON PREMATURE BIRTH
- Natalia Bursacovscaia** 97 **Natalia Bursacovscaia**  
ROLUL FACTORILOR DE RISC AI MALADIILOR THE ROLE OF RISK FACTORS FOR  
NONCOMUNICABILE ASUPRA DECESULUI NONCOMMUNICABLE DISEASES  
INTRAUTERIN AL FĂTULUI IN THE INTRAUTERINE DEATH OF THE FETUS
- Ecaterina Gorceag, Angela Marian-Pavlenco** 102 **Ecaterina Gorceag, Angela Marian-Pavlenco**  
PATOLOGIA GLANDEI TIROIDE THE PATHOLOGY OF THYROID GLAND  
ȘI SARCINA IN PREGNANCY  
CAZ CLINIC CLINICAL LECTURES
- Alina Nicolescu, Ninel Revenco, Sergiu Gladun, Mihail Strătilă** 107 **Alina Nicolescu, Ninel Revenco, Sergiu Gladun, Mihail Stratila**  
DIAGNOSTICUL ERORILOR ÎNNĂSCUTE DE DIAGNOSIS OF INBORN METABOLIC DISORDERS  
METABOLISM PRIN INTERMEDIUL SPECTROSCOPIEI ASSISTED BY NMR SPECTROSCOPY - RECENT  
RMN - CAZURI RECENTE INVESTIGATE ÎN CADRUL CASES FROM INSTITUTE OF MOTHER  
INSTITUTULUI MAMEI ȘI COPILULUI CHIȘINĂU AND CHILD CHISINAU
- Stela Racoviță, Veaceslav Moșin, Svetlana Hadjiu,** 113 **Stela Racovita, Veaceslav Mosin, Svetlana Hadjiu,**  
**Dumitru Poneatenco, Ninel Revenco, Mariana Sprincean**  
SINDROMUL 46,XXY ASOCIAT CU INFERTILITATEA SYNDROME 46, XYY ASSOCIATED WITH MEN'S  
MASCULINĂ: RAPORT DE CAZ CLINIC INFERTILITY: CLINICAL CASE REPORT
- Victoria Hlistun, Daniela Blăniță, Victoria Lupu, Natalia Golub,** 116 **Victoria Hlistun, Daniela Blanita, Victoria Lupu, Natalia Golub,**  
**Ana Oglinda, Svetlana Garaeva, Galina Postolati,**  
**Isabela Tarcomnicu, Danae Stambouli, Alina Nicolescu,**  
**Călin Deleanu, Natalia Ușurelu**  
HIPERGLICINEMIA NONCETOTICĂ - NONKETOTIC HYPERGLYCINEMIA -  
RAPORTARE DE CAZ CLINIC CASE REPORT
- Diana Munteanu, Victoria Hlistun, Elena Samohvalov,** 121 **Diana Munteanu, Victoria Hlistun, Elena Samohvalov,**  
**Daniela Blăniță, Adela Stamatî, Lorina Vudu, Natalia Ușurelu**  
DISLIPIDEMIA SINDROMALĂ - RAPORTARE DE CAZ SYNDROMAL DISLIPIDEMIA - CASE REPORT  
CLINIC A UNEI FAMILII CU SINDROM ALSTRÖM OF A FAMILY WITH ALSTROM SYNDROME
- ÎN AJUTORUL MEDICULUI PRACTICIAN** HELPING THE PRACTITIONER DOCTOR  
**<sup>1</sup>Ana Mișina, <sup>2</sup>Liliana Fuior-Bulhac, <sup>3</sup>V. Petrovici** 126 **Mishina A., Harea P., Fuior-Bulhac L., Petrovici V.**  
TUMORILE OVARIENE STROMALE: OVARIAN STROMAL TUMORS:  
ANALIZA A 23 CAZURI CONSECUTIVE ANALYSIS OF 23 CONSECUTIVE CASES

În baza Regulamentului „Cu privire la evaluarea și clasificarea revistelor științifice, aprobat prin Hotărârea comună a Consiliului Suprem pentru Știință și Dezvoltare Tehnologică al Academiei de Științe a Moldovei și Consiliului Național pentru Acreditare și Atestare nr. 196 din 18.10.2012, Consiliul Suprem pentru Știință și Dezvoltare Tehnologică al AȘM și Consiliul Național pentru Acreditare și Atestare „Buletinul de Perinatologie” s-a conferit **Categoria B.**

EDITORIAL BOARD

**President**, executive Chairman of the editorial board –  
**GLADUN Sergiu**, M.D., Director of the MCI  
**Vice President** – prof. **EȚCO Ludmila**, doctor habilitate in medical sciences, professor, Head of the MCI  
**Vice President** – prof. **REVENCO Ninel**, doctor habilitate in medical sciences, univ. professor, Head of Pediatric Department of the MFU „N. Testemițanu”  
**Responsible Secretary** – **OPALCO Igor**, M.D., Senior Researcher, Scientific laboratory in obstetrics of the MCI

MEMBERS PROFESSOR

Gudumac Eva, Cernețchi Olga, Boian Gavriil, Moșin Veaceslav, Curteanu Ala, Mișu Ion, Paliș Ina, Babuci Veaceslav, Paladi Gheorghe, Friptu Valentin, Sinițana Lilia, Stamatî Maria (România), Burlea Marin (România), Stoicescu Silvia (România), Dahno Feodor (Ukraine), Șunico Elizaveta (Ukraine), Godovaneț Iulia (Ukraine), Carapato RM (Portugal), Ivanov Oleg (Russia), Șifman Efim (Russia), Rusnac Tudor (Russia), Maciej Banach (Polonia), Apostolis Athanasiadis (Greece), Anstaclis Aris (Greece), Nejole Dvazdiene (Lithuania), Arunas Valiulis (Lithuania), Mihai Leonida Neamțu (România), Irina Nichitina (Russia), Vartanov Vladimir (Russia).

Adresa redacției:  
MD-2032, Republica Moldova,  
Chișinău, str. Burebista, nr. 93, bir. 207  
Tel.: (+373) 79542533

Revista a fost înregistrată la Ministerul de Justiție al Republicii Moldova – 03.06.1998  
Certificat de înregistrare nr. 48  
Tiparul a fost executat la ÎS FEP „Tipografia Centrală” sub com. 1296, tiraj: 500 ex.  
mun. Chișinău, str. Florilor, 1.

## JUBILEU

# OMUL, PEDIATRUL, SAVANTUL, PROFESORUL, MANAGERUL – NINEL REVENCO

O filă aparte a istoriei în pediatria contemporană este scrisă de distinsa și apreciată doamnă Ninel Revenco – doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar, cercetător și manager, persoană de mare responsabilitate. Dintr-o privire retrospectivă a celor aproape patru decenii de muncă asiduă, omagiata se prefigurează ca o personalitate complexă, preocupată de o serie de probleme fundamentale ale sănătății copiilor, foarte variate și care își împărtășește propriile idei cu întreaga comunitate. Această aniversare este un emoționant prilej de venerare și omagiere a colegului nostru, pe care îl privim cu respect și-i aducem cuvenitul cuvânt de laudă. Eforturile consecvente investite în activitatea clinică și de cercetare științifică, devotamentul și pasiunea cu care practica medicina, au fost în permanență susținute de un crez, pe care îl putem sintetiza în cuvintele: verticalitate, competență, spirit activ, inițiativă, principialitate, autoritate, voință și înțelepciune.

Realizările profesionale ale Doamnei Profesor Ninel Revenco sunt impresionante. Și-a început activitatea clinică în calitate de medic pediatru neonatolog. A urmat secundariatul clinic în cardiologie pediatrică și instruirea în reumatologie pediatrică în Oxford, Marea Britanie. Gradul științific de doctor habilitat în științe medicale a înclinat cercetările proprii, totodată experiența vastă în domeniul activității de cercetare se reflectă în realizările frumoase ale discipolilor săi, Dna Revenco având o activitate didactică desăvârșită în calitate de profesor universitar; activitate managerială în cadrul Institutului Mamei și Copilului (Șef Clinică Reumatologie și Vicedirector Cercetare, Inovație și Transfer tehnologic) și a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” (Director Departament Pediatrie).

Experiența vastă în domeniu este aplicată cu succes în activitățile de consultanță și conducere în calitate de Expert al Companiei Naționale de Acreditare și Evaluare în Sănătate, Specialist Principal în Reumatologia Pediatrică al Ministerului Sănătății, Președinte al Comisiei de Specialitate Pediatrie MSMSP RM, Președinte al Comisiei de Atestare al Medicilor Pediatri și Neonatologi din RM, Președinte al Societății de Pediatrie din Moldova. Executarea funcțiilor de Delegat Național al Republicii Moldova la Academia Europeană de Pediatrie, Vicepreședinte de Onoare al Societății de Pe-



diatrie din România și Vicepreședinte al Federației Pediatrilor Țărilor CSI se reflectă în colaborarea vastă internațională, care se realizează prin organizarea a numeroase conferințe și simpozioane cu participarea experților de talie mondială. Alinierea la standardele internaționale în domeniul pediatriei este un obiectiv realizat cu succes de doamna Profesor Ninel Revenco în calitate de Coordonator de țară al Organizației Mondiale a Sănătății și UNICEF.

Este autoare a numeroase publicații științifice și metodicodidactice: monografii, articole științifice apărute în reviste de specialitate din străinătate și culegeri științifice internaționale, articole publicate în culegeri științifice naționale, publicații electronice, comunicări prezentate la diverse manifestări științifice, certificate de drept de autor și de inovator. De remarcat și manualul de pediatrie pentru învățământul universitar, recomandări/indicații metodice, ghiduri și protocoale clinice naționale.

Amintim aici și de titlul *Omul Anului* și medalii, diplome și mențiuni conferite de Guvernul Republicii Moldova, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Institutul Mamei și Copilului și alte organizații, inclusiv de peste hotare, pentru activitate prodigioasă în domeniul ocrotirii sănătății, pentru responsabilitate, contribuție importantă la dezvoltarea și perfecționarea sistemului medical din țară, recunoștință și apreciere pentru munca depusă, pentru activitatea remarcabilă, merite deosebite în dezvoltarea cercetării, promovarea imaginii Republicii Moldova pe plan internațional.

Activitatea prodigioasă de cercetare în plan național și internațional se reflectă în numeroasele proiecte conduse de doamna Profesor Ninel Revenco – proiect moldo-german „Projektes Curriculare Modernisierung und bessere Versorgung der Republik Moldova” (2012-2014), proiectul de colaborare cu Suedia, Lituania și Ucraina sub egida Institutului Suedez „Networking to improve health care for mothers and premature infants in the Baltic region and Moldova. Swedish Institute Baltic Sea Unit” (2015-2016), proiectul național „Evaluarea incidenței, prevalenței, factorilor de risc, cercetarea aspectelor clinice, neuroimagistice, neurofiziologice și de remediere neurotrofică a acciden-

telor vasculare cerebrale la copii” (2017-2018), proiectul național „Elaborarea metodelor inedite de diagnostic precoce al maladiilor imunodeficitare în baza studiului clinic-imunologic și molecular-genetic al pacienților cu suspjecție la imunodeficiențe primare” (2020-2023), proiectul național „Impactul imunizării asupra morbidității și mortalității copiilor prin boli respiratorii în Republica Moldova” (2020-2023), proiecte naționale cu suportul UNICEF Moldova „Supportive supervision on strengthening home visiting programme as a part of child health, growth and development standards” (2017-2019) și „Strengthening Mother and Child Health Component at the Level of Primary Health Care” (2019-2020), și multe alte proiecte naționale și internaționale.

Doamna Profesor Ninel Revenco este un reprezentant de elită al comunității pediatriilor din țară, dar și al co-

munității științifice, înalt apreciată de colegii de breaslă din țară și de peste hotare. Rezultatele cercetărilor și activității dumneaei sunt dovada muncii pe care o depune în favoarea tinerei generații și merită cu desăvârșire acest titlu frumos de „*mama tuturor micuților*” din Moldova. Ne exprimăm recunoștința pentru contribuția remarcabilă pe care a realizat-o pe parcursul anilor în tratarea și salvarea miilor de copii din întreaga țară.

Cu deosebit respect,  
colectivul Institutului Mamei și Copilului,  
al Departamentului Pediatrie  
al USMF „Nicolae Testemițanu”  
și întreaga comunitate medicală  
din Republica Moldova



## PROFESORUL LUDMILA EȚCO, PERSONALITATE DE PRESTIGIU A ȘTIINȚEI MEDICALE, OMAGIATĂ LA ÎMPLINIREA VÂRSTEI DE 75 DE ANI

Comunitatea medicală din R. Moldova a omagiat, la 20 iunie a.c., pe Dna Ludmila Ețco, Profesor Cercetător, doctor habilitat în științe medicale, cercetător științific principal al Laboratorului Obstetrică al IMSP Institutul Mamei și Copilului,

Dna Profesor Ludmila Ețco este o personalitate de prestigiu a medicinei, în special a obstetricii și ginecologiei moldovenești, profesor cercetător, savant și practician de renume națională și internațională. Domnia Sa și-a dedicat întreaga existență acestui domeniu de extremă dificultate, printr-o activitate complexă, desfășurată în spital, în sala de naștere, în cercetare, ca medic de vocație și om de știință. Prin activitatea desfășurată, aflată în avangarda evoluțiilor din aria științelor medicale, prin opera științifică pe care a realizat-o, Dna Profesor Ludmila Ețco are un aport considerabil în domeniul obstetricii și ginecologiei contemporane.

După absolvirea cu eminență a Facultății de Medicină Generală a Institutului de Stat de Medicină din or. Chișinău, 1968, Dna Ețco a debutat ca medic obstetrician ginecolog la Spitalul central raional, or. Nisporeni. A activat ulterior ca medic de sector în serviciul de consultație pentru femei, apoi medic-ordinator în staționarul Maternității republicane din or. Chișinău.

În perioada 1977-1986, a deținut funcția de medic-șef adjunct în problemele curative în Maternitatea orașenească nr. 2, iar în următorii doi ani a activat în calitate de medic-șef adjunct al Spitalului Clinic Republican nr. 2.

Odată cu fondarea, în 1988, a IMSP Institutul Mamei și Copilului, Profesorul Ludmila Ețco devine unul dintre primii colaboratori. În calitate de șef al secției științifice de obstetrică a acestei instituții, a contribuit esențial la formarea și dezvoltarea colectivului Departamentului cercetare. De-a lungul timpului, în cadrul Laboratorului Obstetrică, au fost derulate circa 11 proiecte de cercetare, care au avut ca tematică profilaxia maladiilor infecțioase la lăuze și copii, patologia infecțioasă în perioada prenatală, determinarea factorilor de risc major în morbiditatea și mortalitatea perinatală, profilaxia precoce și tratamentul preventiv al gravidelor cu risc sporit de patologie a sistemului nervos central la făt pentru micșorarea invalidității copiilor și ocrotirea sănătății neuropsihice a societății etc.

Dna L. Ețco îmbină activitatea științifică cu o bogată și responsabilă practică medicală, contribuie la prestarea



serviciilor medicale de calitate prin participarea activă și asigurarea procesului curativ, prin acordarea tratamentului conservator și chirurgical gravidelor și lăuzelor. Expert obstetrician-ginecolog de înaltă calificare, dna L. Ețco a salvat personal viețile a numeroase paciente, inclusiv prin asigurarea serviciului de urgență la nivel național pe linia Aviației Sanitare.

Inspirat și talentat om de știință, prof. Ețco este și un iscusit manager în sănătatea publică. Ea a executat, în perioada anilor 2003-2010, funcția de Director general al Institutului de Cercetări Științifice în

domeniul Ocrotirii Sănătății Mamei și Copilului. Prin eforturile dnei Ludmila Ețco și ale colectivului pe care l-a condus, s-a obținut reducerea morbidității și mortalității materne și infantile în republică. Elemente noi de asigurare a calității serviciilor medicale, cum sunt instituirea serviciului sanitar-epidemiologic și organizarea măsurilor antiepidemice adecvate, au permis să fie tratate cele peste de 300 de gravide contaminate cu gripă tip AH1N1, în anul 2009, fiind evitate cazurile fatale. În aceeași perioadă a fost instituit Serviciul socio-psihiologic care a consolidat efortul serviciilor medicale și sociale în beneficiul mamei și copilului. Regionalizarea asistenței materne, perinatale și infantile a fortificat capacitatea tehnico-materială și a resurselor umane și a consolidat efortul la nivelul central și local pentru asigurarea accesului echitabil al populației, în special al femeilor și copiilor din localitățile rurale, la servicii medicale de calitate, prin crearea tehnologiilor contemporane (inclusiv nemedicamentoase) ce vizează diagnosticul și tratamentul infecției intrauterine, profilaxia afecțiunilor septico-purulente, după nașterea per vias naturales și prin operație cezariană. Ca rezultat, s-a

obținut reducerea mortalității infantile și materne în Republica Moldova.

Activitatea științifică a dnei Ludmila Ețco a debutat cu teza de doctor în științe medicale, realizată în cadrul Institutului de Cercetări de Obstetrică și Ginecologie „O. Ott” din Leningrad (astăzi St. Petersburg), Russia, pe tema „*Evaluarea comparativă a operației cezariene intra- și extraperitoneale*”. În anul 1995 ea susține teza de doctor habilitat în științe medicale pe tema „*Metode nemedicamentoase de profilaxie și tratament ale afecțiunilor septico-purulente în nașterea prin cezariană*”. Dna L. Ețco deține titlul de Profesor cercetător. Este membru al Consiliului de experți pentru susținerea tezelor în cadrul Consiliului Național de Acreditare și Atestare.

Sub conducerea prof. Ețco au fost susținute 8 teze de doctor în medicină, dintre care o teză a unui cercetător din Ucraina și două din România. Este autorul și coautorul a circa 400 de publicații științifice, 27 de brevete de invenție, deținătoare a 8 medalii la expoziții internaționale, dintre care 3 de aur, inclusiv medalia de aur a Organizației Mondiale a Proprietății Intelectuale (OMPI).

Este un mentor excelent pentru colegi și medicii tineri, fiind din 1986 angajata Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” și parcurgând calea de la asistent la profesor al Catedrei de obstetrică și ginecologie, astăzi continuă pregătirea cadrelor medicale. Un merit deosebit i se atribuie Dnei profesor Ludmila Ețco pentru contribuția sa la promovarea bunului nume al Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, al predecesorilor și profesorilor, colegilor de facultate și de breaslă prin editarea a două cărți: „*Studentii pentru o zi*” (carte-album), despre promoția anului 1968, care a sărbătorit 50 de ani de la absolvirea Institutului de Stat de Medicină, (a.2018, 156 p.) și „*Instituția Medico-Sanitară Publică Institutul de Cercetări Științifice în Domeniul Ocrotirii Sănătății Mamei și Copilului, la 25 ani*” (a.2007, 416 p.), care urmăresc motto-ul „*Purta-vom mereu cu noi o parte din Alma Mater*”.

Dna Ludmila Ețco este membru al Academiei de Studii Înalte din România, expert al Consiliului Național de Atestare și Acreditare, membru al conducerii Asociației Obstetrică și Ginecologie din RM, vicepreședinte al Colegiului de redacție al revistei „Buletin de perinatologie” și membru al consiliului editorial al revistei „Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină”.

Pentru competență, profesionalism și dedicație, dna Profesor s-a învrednicit de următoarele distincții: „Inventator remarcabil” cu Medalia de Aur a Organizației Mondiale a Proprietății Intelectuale (OMPI) (anul 2000); Laureat al Premiului Academiei de Științe din RM (anul 2004); Ordinul tehnico-științific și cultural „Leonardo da Vinci” la Forumul Internațional al inventatorilor (România, 2005); Medalia comemorativă „Nicolae Testemițanu” (anul 2005); Diploma Guvernului Republicii Moldova pentru activitate fructuoasă în domeniul ocrotirii sănătății și cu prilejul aniversării a 60-a (anul 2005); Medalia Jubiliară „60 de ani de la fondarea primelor instituții academice din Republica Moldova” (anul 2006); Medalia „Dimitrie Cantemir” (anul 2010); Diploma Ministerului Sănătății al Republicii Moldova (anul 2010).

Într-o societate care are nevoie acută de repere și de modele, Profesorul Ludmila Ețco este un model de medic de excepție, profesor, cercetător care și-a dedicat întreaga existență binelui semenilor. Este o persoană onestă, devotată profesiei, muncitoare, inteligentă, profesionist competent și principial, cu un aport sporit și cu integritate recunoscută. Dna L. Ețco se bucură de respect și considerație bine meritată din partea colegilor de breaslă, a comunității academice și științifice, a pacienților, a societății civile, a tuturor și altor persoane cu care a colaborat în cariera sa.

*La mulți ani, Doamnă Profesor!*

Departamentul Cercetare,  
Inovare și Transfer Tehnologic  
IMSP Institutul Mamei și Copilului

## ARTICOLE ORIGINALE

© Natalia Ușurelu\*

NATALIA UȘURELU

# INTRODUCTION INTO INBORN ERRORS OF METABOLISM

*Institute of Mother and Child, Chisinau, Republic of Moldova*

### REZUMAT

### INTRODUCERE ÎN ERORI ÎNNĂSCUTE DE METABOLISM

Lucrarea însumează un scurt reviu al literaturii asupra domeniului erorilor înnăscute de metabolism (EIM), care se prezintă în număr peste 1000 de EIM din cele peste 6000-8000 de boli rare cunoscute și prezintă o importanță deosebită pentru structura morbidității și mortalității infantile. Sunt abordate principiile de clasificare a EIM conform căilor patofiziologice implicate în erorile metabolice, modul de manifestare clinică, metodele de diagnostic specific și tratament. Se delimitează despre 3 grupuri mari de EIM – 1) ”de tip intoxicație”, 2) care decurg cu deficit de energie și 3) erori cu deficit al sinteză sau degradare a compușilor complecși. Programele de screening neonatal, dar și cele selective, reprezintă instrumentul cel mai important în diagnosticul timpuriu al EIM pentru inițierea precoce a unui tratament specific cu salvarea copilului. Trei linii de ”work-up metabolic” sunt folosite în stabilirea EIM. Deși metoda LC-MS reprezintă standardul de aur actualmente în diagnosticul EIM, deoarece în ultimul timp acestea se manifestă mult mai complex, cu suprapunerea semnelor clinice și a biomarkerilor, metodele de ”untargeted metabolic screening” preiau întâietatea în aplicare. S-a experimentat în ultimii ani chiar și screeningul genomic neonatal. Dezvoltarea domeniului EIM în R. Moldova nu corespunde deocamdată multor standarde, dar cooperarea internațională permite diagnosticul EIM și crearea unui network regional de diagnostic.

**Cuvinte-cheie:** erori înnăscute de metabolism, diagnostic, screening, boli rare

### РЕЗЮМЕ

### ВВЕДЕНИЕ В НАСЛЕДСТВЕННЫЕ НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ

В статье приводится краткий обзор литературы в области наследственных болезней обмена веществ (НБО), которые составляют более 1000 заболеваний из более чем 6000-8000 известных редких болезней, имеющие особое значение в структуре детской заболеваемости и смертности. Принцип классификации НБО рассматривается в соответствии с патофизиологическими путями, вовлеченными в метаболические нарушения, а также приводятся данные о клинических проявлениях, специфических методах диагностики и лечения. Сообщается о трёх больших группах НБО - 1) «интоксикационный тип», 2) заболевания возникающие из-за энергетического дефицита и 3) из-за дефицита фермента синтеза или разлагающего комплексные соединения. Массовые программы скрининга новорожденных, а также селективные скрининговые программы являются наиболее важным инструментом ранней диагностики НБО для раннего начала специфического лечения и спасения детей. Три этапа «метаболических исследований» используются при установлении НБО. Хотя метод LC-MS является золотым стандартом в настоящее время в диагностике НБО, но учитывая что в последнее время НБО становятся более сложными из-за наложения клинических проявлений и биомаркеров, методы «нецелевого метаболического скрининга» имеют преимущество. Даже неонатальный геномный скрининг был испытан в последние годы. Развитие области НБО в Молдове не проводится в соответствии со многими стандартами, но международное сотрудничество позволяет диагностировать НБО и создать региональную диагностическую сеть.

**Ключевые слова:** наследственные болезни обмена веществ, диагноз, скрининг, редкие болезни.

**Introduction.**

Among more than 6000-8000 of rare diseases, over 1000 are inborn errors of metabolism (IEM), which cumulatively affect approximately one in every 500 newborns and represent a special challenge in general and pediatric practice [5]. The IEM results from the total or partial absence or abnormality of an enzyme or its cofactor, structural protein, or transporter molecule leading to either accumulation or deficiency of a specific metabolite. The term of IEM, was coined by a British physician, Archibald Garrod (1857–1936), in the early 20th century. He is known for work that prefigured the “one gene-one enzyme” hypothesis, based on his studies on the nature and inheritance of Alkaptonuria [8,10].

The definition of IEM has kept its power for years and according to it a metabolic deterioration could cause the minor to severe clinical symptoms, mostly with neurological and psychiatric symptoms that often lead to death or life long disability. Although IEM have usually been considered pediatric diseases, however they can show up at any age [1,2,3].

IEM are usually rare diseases whose frequency is less than 1:2000 people. About 75% of rare diseases affect children and 35% of rare disease patients will die before their 1<sup>st</sup> birthday and another 30% will die before their 5<sup>th</sup> birthday. In 65% of cases IEM can lead to severe disabilities affecting the quality of life, in 9% the patient losing totally autonomy. In 80% of rare diseases genetic origins have been identified. 90% of rare diseases have no Food and Drug Administration approved drug treatment and actually scientists are working on a

treatment for many rare diseases. The total number of persons in Europe suffering from one of the rare diseases is estimated at over 30 million (6-8% of the European population)[13]. Rare diseases are rare, but rare disease patients are numerous!

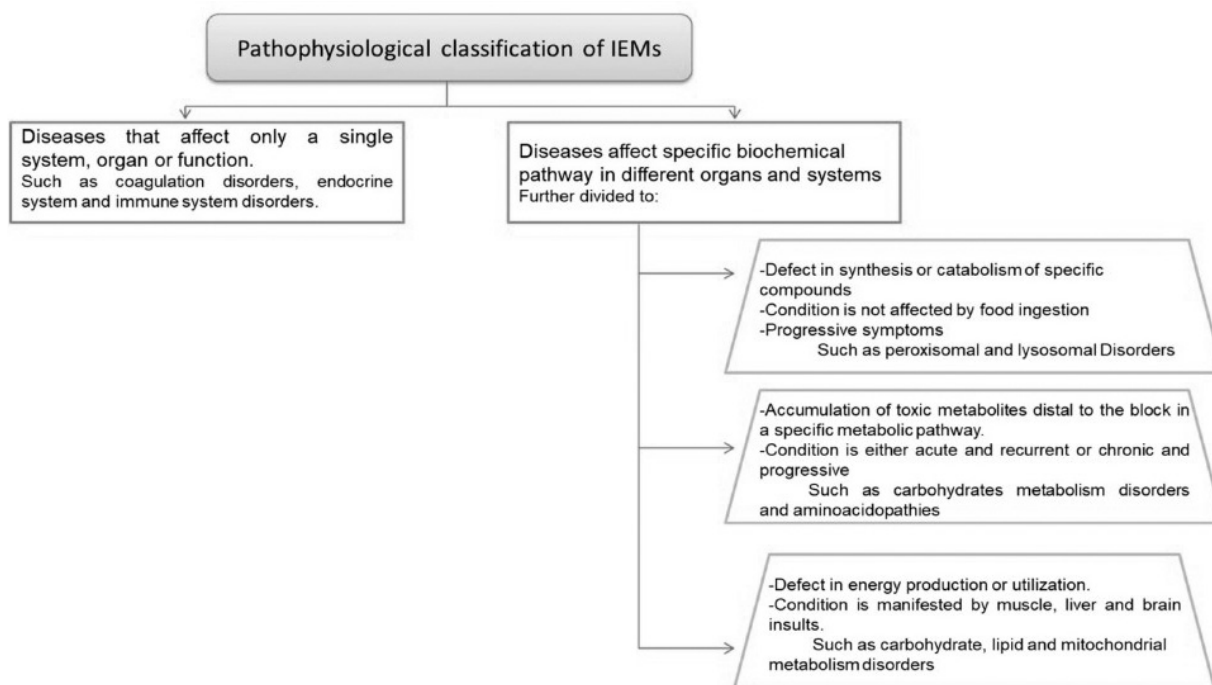
For the first, the IEM were classified according to the substrate involved in deteriorated metabolism as: disorders of amino acids, carbohydrates, organic acids, lysosomal storage diseases or disorders of Cooper, Molybdenum and other. Actually, the classification of IEM is based on the cell organelles and biochemistry processes involved in the metabolic pathway. If to consider the cell’s organelles involving into metabolic pathway the IEM could be designed as: mitochondrial disorders, peroxisomal, lysosomal diseases and disorders affecting the Golgi Apparatus and Endoplasmic Reticulum [1-5].

Recently, due to the discovery of metabolic pathways involved in IEM more complex classification has been proposed. So, according to these, IEM are categorized into two big classes:

I<sup>st</sup> - Diseases that affect only a single system, organ or function (such as coagulation disorders, endocrine system and immune system disorders) and II<sup>nd</sup> - Diseases affecting specific biochemical pathway in different organs and systems. The second class further is divided to the following groups: A - “Intoxication type” disorders, B - Defects in “energy” production or utilization and C - Defects in synthesis or catabolism of complex specific compounds (fig. 1) [8-10].

For the “Intoxication type” disorders there is specific the accumulation of toxic metabolites distal to the

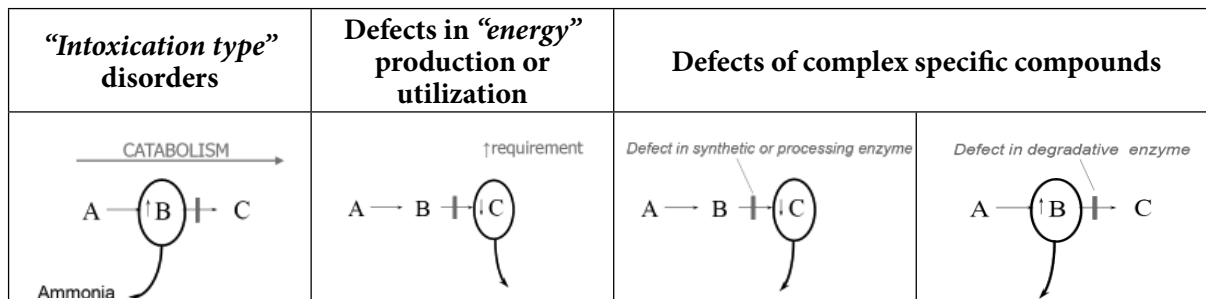
**Fig. 1. Pathophysiological classification of IEM [from 11].**



block in a specific metabolic pathway (fig. 2). This type of disorders has no problems *in utero*. The condition is usually manifested acute or recurrent after a “free

having abnormal embryogenesis. Last time there were developed many treatment options such as enzyme replacement (like in Mucopolisaccharidosis type

**Fig. 2. The model of pathways involved in IEM.**



*symptoms window*” after birth or could be chronic and progressive. This group includes the following IEM: aminoacidopathies (such as: Urea Cycle Disorders, Organic Acidurias (Methylmalonic Aciduria, Propionic Aciduria, etc.), Maple Syrup Urine Disease, Phenylketonuria, etc.) and carbohydrates disorders (Galactosemia, Fructosemia). The onset of protein and carbohydrates disorders is usually shown acute in neonatal period when the metabolic block is complete, and comprise non-specific clinical features of metabolic decompensation. Among them there are “unwell” state, lethargy, feeding problems, vomiting, abnormal breathing, hypotonia, seizures and progressing to coma. The decompensation could be triggered by catabolism, food intake, fever, surgery etc. The clinical signs of intoxication usually include neurological effects. Late onset and intermittent forms can occur. Most of them are treatable through dialysis, special diets or drugs [1-7]. As for Defects in “energy” production or utilization, pathological conditions are manifested by muscle, liver, heart and brain damage (fig. 2). This class of IEM encloses the disorders such as the carbohydrates, fats and mitochondrial metabolism and integrates the Glucose Transport Disorders, Glycogen Storage Disorders (GSD), Congenital hyperinsulinism, Fatty Acids Oxidation Defects (FAODs) and Mitochondrial Diseases. They are usually multisystem disorders and are determined by gradually degradations of patient’s condition. For the FAODs and GSDs the embryogenesis is normal, they could decompensate with infections, fasting or exercise, but usually are treatable by diet and/or drugs. The Mitochondrial diseases are characterized by many malformations, chronic or acute deterioration without triggers and only some of them can be treated [1-7]. The third group of IEM is represented by the Defects in synthesis or catabolism of complex specific compounds (fig.2) and encompasses the disorders such as: Lysosomal, Peroxisomal Disorders, Congenital Disorders of Glycosylation, Neurotransmitters Disorders (Serine). The condition is not affected by food ingestion, but the symptoms are progressive with chronic deterioration of child development. These patients are often dysmorphic

1, Gaucher Disease, Fabry, Pompe Disease etc.) or substrate reduction therapy (Niemann Pick), bone marrow transplantation or using product as mannose, serine etc [1-7].

The IEM may present at various ages and in different ways. Clinical presentation of some diseases can occur even before birth (*in utero*) or at birth, or during the first days of life as deterioration after normal birth and delivery [10]. Errors in fetal metabolism may be associated with developing maternal complications during pregnancy such as fatty liver and HELLP (Hemolysis, Elevated Liver Enzymes, Low Platelets) syndrome [7]. At birth, the newborn with IEM usually seems healthy, but the general condition can be deteriorated acutely by severe acidosis, alkalosis, or hypoglycemia, starting from the first day of life or later. The baby’s general condition is often impaired rapidly despite normal or non-specific findings in routine investigations (such as laboratory signs of infection, lumbar puncture, chest X-ray, cranial ultrasound) and antibiotic therapy. They also can manifest as perinatal asphyxia, or later as nonspecific chronic manifestations such as delays in childhood developmental milestones [1-5,7,8].

The rate of deterioration is variable according to the disease type, depending on the severity of metabolic block and the most affected organ. IEM may appear as neurological symptoms, disorders of acid-base balance, respiratory arrest, unexplained hypoglycemia, cardiomyopathy, hepatic deterioration, muscle weakness or sudden death. Other diseases have more subtle presentations, such as a characteristic odor which is not commonly detected [1-5,7,8]. In general, the IEM diseases are responsible for a significant number of childhood disabilities and deaths [12].

As a consequence, an IEM should be considered in all neonates with unexplained, overwhelming or progressive disease particularly after normal pregnancy and birth with acute deterioration of the general condition and/or reduced consciousness; particularly when preceded by vomiting, fever or fasting; with signs of acidosis or hypoglycemia [5].

The most of IEM are inherited by autosomal-

recessive way, but the autosomal-dominant, maternal (mitochondrial) or X-linked ways were observed. Some of the IEM are potentially treatable by a specific therapy and their early diagnosis is very important. Three main variables are in the metabolic theorem: early diagnosis plus prompt treatment lead to better prognosis that is why it deserves the efforts of investigations and early diagnosis for preventing of poor outcome. Appropriate diagnostic and therapeutic measures must be initiated as soon as possible to avoid long-term damage.

Many different investigations are used for diagnosis of IEM. The major elements of principles of investigation are: to recognize clinical phenotype and consider the possibility of an IEM early, to proceed from generic to specific tests and identify promptly disorders needing urgent treatment (mostly disorders of intermediary metabolism). The basic "metabolic work-up" usually includes several lines of investigations. As first line investigations there are usually handling the tests for any sick infant with the results within minutes or hours. It comprises the full blood count, blood gas/electrolytes (bicarbonates and anion gap), liver function tests, glucose, lactate and ammonia and urine analysis as smell, reducing substances (galactose, glucose, fructose etc.) and ketoacids, as well [2,3].

The second line of "metabolic work-up" covers many specific analysis as blood spot acylcarnitine profile, blood and urine amino acids, urine organic acids, and others depend upon differential diagnosis (e.g. CSF glucose, lactate, amino acids etc.). According to such kind of results usually a metabolic diagnosis is outlined. These two important steps of investigations are used for acute presentations. The third line of investigations comprises usually confirmatory tests by enzyme assay, fibroblasts, muscle biopsy and DNA. Certainly, to complete a metabolic diagnosis there are used many other investigations as: electrocardiogram, electroencephalogram, electromyogram, brain MRI, ophthalmic investigations, etc [1,2,3].

A very important diagnostic tool is the neonatal screening. Many neonatal screening programs are being implemented, with the priority of rapidly signaling treatable diseases. If initially the newborn screening were based on the Gutrie' test (bacterial inhibition assay), the methods were developed subsequently by radio-immunoassays, enzyme-immunoassays, gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) and liquid chromatography/mass spectrometry (LC-MS), enabling the rapid diagnosis of dozens IEM in parallel, the last becoming the gold standard for measurements of IEM currently. However, newborn screening programs exclusively use targeted metabolic assays that focus on limited panels of compounds for selected IEM diseases [14,15]. Because the IEM may present more complex last time with multiple overlapping symptoms and metabolites the untargeted metabolomics screening programs are enforced for early and accurate diagnosis. These methods are usually enabled to identify

more than 300 metabolites at the same time [11]. Even genomic newborn screening was experienced last years. Nowadays, the newborn screening programs were slowly established as a part of preventive medicine.

The IEM area is a very important domain determining the infant and child morbidity and mortality. It requires very expensive equipment and a very good trained multidisciplinary team of professionals to be developed. In Moldova this domain is not evolved according to many standards due to very limited financial possibilities, but the diagnosis of IEM, beside Phenylketonuria (PKU) where there is the neonatal screening, is successfully initiated through a very fruitful collaboration with the foreign partners, supporting in such a way the creation of the National Register of Rare Diseases in Moldova.

Thus, the basic "metabolic work-up" as the blood gas/electrolytes, ammonia, lactate, glucose, biochemistry, amino acids of body fluids by liquid chromatography, and many DNA tests are performed in Moldova. Other investigations as the <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy for organic acids of urine/CSF/amniotic fluid - in Romania; LC-MS with acylcarnitine profile - in Hungary and Romania; neurotransmitters in CSF - in Germany (Heidelberg), lysosomal disorders- Germany (Hamburg), and IEF of Transferrin - in the Netherlands and USA. In a such a way there was created a regional metabolic network and due to could report on many disorders as Methylmalonic Acidurias, Glutaric Aciduria type 1, Isovaleric Aciduria, Non-Ketotic Hyperglycinemia, Mucopolysaccharidosis (type 1,2,3), Gaucher Diseases, Glycogen Storage Disorders, Mitochondrial Diseases, Congenital Disorders of Glycosylation, etc.

**Conclusions:** IEM represent a significant cause of child morbidity and death. In the absence of a system for IEM performing in Moldova the collaboration with other groups is very important. The evaluation of clinical manifestations remains the most important to suspect an IEM patient. Among for Moldova the <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy of urine performed in Romania (the nearest Lab) seems to provide high analytic information improving the orientation in diagnosis of IEM in unclear patients, but all methods are very necessary and should be developed for the better IEM diagnosis. Early diagnosis of IEM is very important for the specific therapy initiation and for further prevention by prenatal tests. Our further developmental strategy is to improve the field of IEM in Moldova through the common European projects.

Acknowledgements for their contribution for developing IEM in Moldova to:

**Dr. Calin Deleanu, Dr. Alina Nicolescu-** <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy group, "Petru Poni" Institute of Macromolecular Chemistry, Academy, Iași, and "C. D. Nenitescu" Centre of Organic Chemistry, Romanian Academy, Bucharest, Romania;

**Dr. Isabela Tarcomnicu, Dr. Danae Stambouli-**

CytoGenomic” Medical Laboratory, Bucharest, Romania;  
**Prof. Laszlo Szönyi, Prof. Lidia Balogh**- 1st Department  
of Pediatrics, Semmelweis University, Budapest, Hungary  
**Prof. Georg F. Hoffmann** - University Hospital  
Heidelberg, Germany;

**Prof. Lukacs Zoltan** - Hamburg University Medical  
Center, Germany;

**Prof. Alberto Burlina** - Metabolic Division, University of  
Padova, Italy;

**Prof. Thony Beat** - Division of Metabolism, Dept  
Pediatrics, University of Zürich, Switzerland;

**Ass. Prof. Dirk Lefeber, Prof. Ron Wevers** – Radboud  
University Medical Center, Nijmegen, The Netherlands;

**Prof. Eva Morava** - Tulane Medical School, New-Orleans,  
LA, USA;

**Dr. Svetlana Garaeva, Postolati Galina, Redcozubova  
Galina** - Institute of Physiology and Sanocreatology of  
Academy of Science of Moldova, Chisinau, Moldova.

#### Bibliography:

- Hoffmann, Georg F., Zschocke, J.N., William L. Inherited Metabolic Diseases A Clinical Approach. Copyright 2017. ISBN 978-3-662-49410-3. DOI.10.1007/978-3-662-49410-3;
- Blau, N., Duran, M., Gibson, K.M., Dionisi-Vici, C. Physician’s Guide to the Diagnosis, Treatment, and Follow-Up of Inherited Metabolic Diseases. Copyright 2014. ISBN 978-3-642-40337-8;
- Saudubray, J-M., Baumgartner, M., Walter, L. Inborn Metabolic Diseases Diagnosis and Treatment. Copyright 2016. ISBN 978-3-662-49771-5; DOI.10.1007/978-3-662-49771-5Romanian ;
- Sarafoglou K., Hoffmann Georg F., Roth K. S. Pediatric Endocrinology and Inborn Errors of Metabolism 1st Edition, Kindle Edition.2012. ISBN-13: 978-0071439152;
- Zschocke J., Hoffmann, Georg F. Vademecum Metabolicum Manual of Metabolic Paediatrics. Second Edition. Schattauer, 2004.ISBN 9783794523856 3794523857;
- Bower A., Imbard A., Benoist J-F., Pichard S., Rigal O., Baud O., Schiff M. Diagnostic Contribution of Metabolic Workup for Neonatal Inherited Metabolic Disorders in the Absence of Expanded Newborn Screening Sci Rep, 9(1),14098, 2019 Oct 1. DOI: 10.1038/s41598-019-50518-0;
- Labarthe F., Tardieu M., Parscau de L., Lamireau D. Clinical Presentation of Inborn Metabolic Diseases in the Neonatal Period. Arch Pediatr, 19 (9), 953-8 Sep 2012 DOI: 10.1016/j.arcped.2012.06.008;
- Martins, A.M. Inborn errors of metabolism: A clinical overview. Sao Paulo Med. J. 1999, 117, 251–265. [CrossRef];
- Das, S.K. Inborn errors of metabolism: Challenges and management. Indian J. Clin. Biochem. 2013, 28, 311–313. [CrossRef] [PubMed];
- Saudubray, J.M.; Garcia-Cazorla, A. Inborn Errors of Metabolism Overview: Pathophysiology, Manifestations, Evaluation, and Management. Pediatric Clin. N. Am. 2018, 65, 179–208. [CrossRef] [PubMed];
- Ismail, I. T., Showalter M. R., Fiehn O. Inborn Errors of Metabolism in the Era of Untargeted Metabolomics and Lipidomics. *Metabolites* 2019, 9, 242; doi:10.3390/metabo9100242. [www.mdpi.com/journal/metabolites](http://www.mdpi.com/journal/metabolites).
- Donald Waters\*, Davies Adeloye\*, Daisy Woolham, Elizabeth Wastnedge, Smruti Patel, Igor Rudan Global birth prevalence and mortality from inborn errors of metabolism: a systematic analysis of the evidence. *Journal of Global Health*, December 2018 • Vol. 8 No. 2 • 021102, [www.jogh.org](http://www.jogh.org), doi: 10.7189/jogh.08.021102 1
- <https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/index.php>
- Jacob, M.; Malkawi, A.; Albast, N.; Al Bougha, S.; Lopata, A.; Dasouki, M.; Abdel Rahman, A.M. A targeted metabolomics approach for clinical diagnosis of inborn errors of metabolism. *Anal. Chim Acta* 2018, 1025, 141–153. [CrossRef] [PubMed].
- Therrell, B.L.; Padilla, C.D.; Loeber, J.G.; Kneisser, I.; Saadallah, A.; Borrajo, G.J.; Adams, J. Current status of newborn screening worldwide: 2015. *Semin. Perinatol.* 2015, 39, 171–187. [CrossRef]

ADELA STAMATI<sup>1</sup>, NATALIA UȘURELU<sup>2</sup>, LILIA ROMANCIUC<sup>1</sup>, NINEL REVENCO<sup>1,2</sup>

## CARDIOVASCULAR DISORDERS IN FABRY DISEASE

<sup>1</sup> - "Nicolae Testemitanu" State University of Medicine and Pharmacy, Department of Pediatrics, Chisinau, Republic of Moldova;

<sup>2</sup>-Institute of Mother and Child, Chisinau, Republic of Moldova

### REZUMAT

#### **AFECTĂRILE CARDIOVASCULARE ÎN BOALA FABRY**

Boala Fabry (BF) este o tulburare de depozitare lizozomică rară a metabolismului glicozigolipidic cauzată de deficiența totală sau parțială a enzimei lizozomice alfa-galactosidaza A. Acumularea progresivă intracelulară multisistemică explică diversitatea manifestărilor clinice, inclusiv la nivelul sistemului cardiovascular. Afectarea cardiacă a fost raportată la 40-60% pacienți, dintre care cardiomiopatia Fabry este adesea responsabilă pentru moartea prematură a unor bolnavi. La copii cu BF implicarea cardiacă include inițial tulburări de conductibilitate sau hipertrofie ventriculară stângă (LVH) inexplicabilă. Evaluarea copilului cu BF implică investigații cardiovasculare standard complexe și investigații genetice. Pacienții cu BF necesită o abordare multidisciplinară, inclusiv evaluare sistematică cardiacă. Aprecierea concentrațiilor enzimelor serice este suficientă pentru confirmarea diagnosticului la băieți, dar testele genetice sunt indispensabil la fete. Obiectivul principal în conduita copiilor cu BF și afectare cardiacă este prevenirea morții cardiace subite. Tratamentul farmacologic cardiac în BF rămâne un subiect controversat. Beneficiul tratamentului enzimatic este evident în variantele cu HVS. În prezența fibrozei și aritmiilor, riscul de moarte subită cardiacă este crescut, ceea ce demonstrează importanța inițierii tratamentului specific la etapele preclinice, inclusiv la pacienții pediatrici.

**Cuvinte-cheie:** Boala Fabry, hipertrofie ventriculară stângă, cardiomiopatie, aritmii

### РЕЗЮМЕ

#### **ПОРАЖЕНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ПРИ БОЛЕЗНИ ФАБРИ**

Болезнь Фабри (БФ) представляет собой редкое лизосомальное нарушение накопления гликозиголипидного метаболизма, вызванное полным или частичным дефицитом лизосомального фермента альфа-галактозидазы А. Многосистемное внутриклеточное прогрессирующее накопление объясняет разнообразие клинических проявлений, включая сердечно-сосудистую систему. Болезнь сердца отмечается у 40-60% пациентов, из которых cardiomiopatia Фабри часто ответственна за преждевременную смерть пациентов. У детей с БФ поражение сердца изначально включает нарушения проводимости или необъяснимую гипертрофию левого желудочка (ГЛЖ). Оценка ребенка с БФ включает стандартные исследования сердечно-сосудистой системы и генетические тесты. Пациенты с БФ требуют междисциплинарного подхода, в том числе систематической оценки состояния сердца. Оценка концентрации фермента в сыворотке достаточна для подтверждения диагноза у мальчиков, но генетические тесты необходимы для девочек. Основной целью при ведении детей с БФ и поражением сердечной мышцы является предотвращение внезапной сердечной смерти. Медикаментозное лечение сердечных изменений у больных с БФ остается спорным. Преимущество ферментативного лечения очевидно в вариантах с ГЛЖ. При наличии фиброза и аритмий риск внезапной сердечной смерти повышается, что доказывает важность начала специфического лечения на доклинических стадиях, включая педиатрических больных.

**Ключевые слова:** болезнь Фабри, гипертрофия левого желудочка, cardiomiopatia, аритмии.



## Introduction

Fabry disease (FD) is a rare X-linked genetic disease in which the gene mutation (GLA) disrupts the structure and function of the  $\alpha$ -galactosidase enzyme A. To date, more than 240 mutations have been identified for FD at the chromosome Xq22.1. Private X recessive transmission explains why all children of a FD mother, both boys and girls, have a 50% risk of inheriting the disease. The classical form is found in males, incidence is 1/40,000-1/60,000 [13].

Clinical variability of different mutations, variable disease severity and symptom onset explain why the disease very difficult to diagnose. All organ complications can however occur in classical and late-onset phenotype (table 1).

Cardiovascular disorders are present in 40-60% of adult patients and involve all cardiac structures. Fabry cardiomyopathy and arrhythmias are responsible for premature cardiac death of patients [31]. Current guidelines show the importance of administering substitution treatment at preclinical stages. The beneficial effects of early-onset treatment on LVH regression have been proven to help prevent premature death.

Based on the actuality of the problem, we have proposed in this paper to estimate the clinical-evolutionary impact of cardiac disorders in children with FD. In achieving the proposed goals, we used the Cochrane library, PubMed medical databases, analyzing the publications up to December 2019.

**Table 1. Typical organ involvement in Fabry disease [4,20]**

Organ system	Complications
Ophthalmological	Cornea verticillata, tortuous vessels, cataracts
Dermatological	Angiokeratoma, hipo/anhidrosis, telangiectasia, lymphedema
Neurological	Neuropathic pain, transient ischemic attack, stroke, neuropsychiatric complications (depression)
Cardiac	Conduction abnormalities, left ventricular hypertrophy, sudden cardiac death
Renal	Proteinuria, reduced glomerular filtration rate
Gastrointestinal	Diarrhea, constipation, early satiety, nausea
Auditory	Hearing loss, tinnitus, vertigo
Respiratory	Cough, wheezing, airflow limitation

Gold standard diagnosis of Fabry disease is genetic analysis, but distinguishing non-pathogenic variants can still be a challenge. Multidisciplinary work is key to comprehensive management of this pathology. To confirm the definitive diagnosis, it is necessary to know the meaning of the following diagnostic methods:

- 1) Specific enzyme assays include determining the level of  $\alpha$ -galactosidase activity in leukocytes or fibroblast cultures. *Interpretation:* A low level of enzymatic activity or even its absence confirms the disease;
- 2) Molecular biology tests by DNA analysis allow the identification of mutations.

In addition, in the carriers (heterozygous) of the mutant gene, where the activity level of the enzyme is at the lower limit of normal, DNA analysis is required from the first evaluation to identify mutations to indicate the carrier state [15].

Disease begins in childhood and has a slowly progression with multisystemic, age-dependent and sex-dependent impairment. Symptomatology may occur in boys at the age of 9 and in girls around the age of 13 [3]. Preclinical manifestations are important in suspecting the disease. Proteinuria and unexplained left ventricular hypertrophy (LVH) may be rise suspicion of early diagnosis [26].

Current strategies for patients affected by FD include screening of newborns, genetic testing for any suspicion of illness, examination of probands in the patients' families, and differential diagnosis in children with hypertrophic cardiomyopathy [29].

## Cardiac disorders

Cardiac involvement is frequent in FD. Patients develop hypertrophic cardiomyopathy (HCM), arrhythmias, conduction abnormalities and valvular abnormalities. The isolated cardiac variant of FD seems to be more common than previously thought: around 3-6% of male patients with left ventricular hypertrophy seem to suffer from this disease variant [25].

FD in adults have various cardiac manifestations, of which the most common are LVH, Fabry cardiomyopathy, hypertension, heart failure, valvulopathy, coronary heart disease, arrhythmias, dilatation of the aorta. Cardiac symptomatology becomes evident in men at 32 years of age and in women at 40 years [16]. At the same time, major cardiac events are responsible for 5% of patients' deaths, which is why the detection and evaluation of LVH and hypertension are crucial in evaluating of patients with FD [24].

Cardiovascular complications of the disease are very frequent and contribute substantially to disease-related morbidity and mortality in men and leading cause of premature death in heterozygous female patients with FD. Men with classic or lather-onset FD caused by GLA missense mutations developed prominent and similar cardiovascular disease at similar ages, despite markedly different  $\alpha$ -galactosidase A activities [2].

The classic cardiac model in FD is HCM or Fabry cardiomyopathy. In turn, HCM is the most common genetic disorder (1/500 general population), mainly

caused by mutations in genes encoding the heart sarcomeric proteins. In 25-30% of cases, the mutant gene is not identified [17]. Recent epidemiological studies have estimated that the 0.5-1% of the patients with HCM suffer from FD [7,14]. Furthermore, FD should be included in the differential diagnosis algorithm of idiopathic hypertrophy [3]. Although it is an X-linked infection, evidence is if heterozygous women can often have a severe HCM associated with heart failure, which can lead to premature cardiac death [36].

Significant cardiomyocyte substrate accumulation led to severe and irreversible cardiac fibrosis before development of LVH or other significant cardiac manifestation. The pathophysiological changes in Fabry's cardiomyopathy are LVH and/or fibrosis. These histological findings allowed the hypothesis that Fabry cardiomyopathy is presented by hypertrophy and vacuolization [28]. Deposits contribute to the initiation of hypertrophic processes, but the progression of hypertrophy does not correlate with pathological accumulations. Histological studies have found only 1-3% of patients with pathological inclusions typical of FD in the hypertrophied myocardial infarction, a finding that does not explain the severity of cardiomyopathy [6]. In patients with classical FD, the left hypertrophy is concentric, rarely asymmetric, or mimic other primary cardiomyopathies [19]. It is possible that these forms of cardiomyopathy are mixed genetic etiology (metabolic and sarcomeric), a hypothesis that presents an additional clinical challenge in determining the diagnosis. Cohort studies shows that women and young men initially present fibrosis with the evidence of LVH, the mechanism of this phenomena is not yet elucidated. In any case, the occurrence of fibrosis is an advanced, irreversible cardiomyopathy with an unfavorable prognosis [9,10].

The most common rhythm and conduction disorders in FD are supraventricular and ventricular arrhythmias. Nevertheless, these symptoms specified for cardiomyopathy, but they can also be present at pre-clinical stages [32]. Another leading disorder, predominantly encountered in adults, is the short PR interval, present in 15% of patients [11]. The authors approved that electrophysiological changes are progressing with disease evolution. Thus, myocardial fibrosis is responsible for fatal ventricular arrhythmias. However, the incidence and predictive factors of the occurrence of arrhythmias requires implantation of cardiac devices are not well-defined [31].

In additional to genetic criteria, the diagnosis of cardiac damage is based on the instrumental methods. Standard electrocardiography (ECG) is an easy and inexpensive test. It is only in examining the children that the accuracy of the age-based criteria for LVH is necessary, including the use of percentile options. The method's readability is doubled by detecting asymptomatic rhythm or driving disturbances. In arrhythmias, additional Holter monitoring is recommended to evaluate arrhythmic events over 24-

48 hours. The results of this monitoring are important in detecting fatal arrhythmias, so the risk of sudden death and the need for therapeutic regimens will be appreciated. Cardiodefibrillator implantation was assessed, to prevent sudden cardiac death. [8]. Exciting ECG methods may also highlight other electrolyte disturbances, such as disturbances in repolarization processes. The latter, as well as effortlessness, may be suggestive of the presence of myocardial fibrosis or heart failure [22].

The LVH is a pathognomonic in diagnosis of FD. The LVH detection allows clinicians to suspect a FD form and argues the need for specific genetic testing. Smid et al. have developed the criteria for a definitive diagnosis, where genetic confirmation is mandatory. The uncertain diagnosis includes nonspecific signs, especially the LVH and stroke at young age. The authors said that in any non-classical FD form, the detection of specific lysosomal deposits in organs or tissues (heart, kidneys, skin, etc.) by microscopy techniques by a trained specialist constitutes a diagnostic confirmation [34]. The recommendations of the European Fabry Working Group have developed a consensus document, formulating a series of recommendations for the initiation and termination of substitution treatment in patients with FD, based on the results of several randomized trials. The choice of treatment criteria will take into account the type of disease (classical/non-classical) and gender apathy. According to these recommendations, substitution treatment (Class I recommendation) is initiated in any type of illness, in the presence of LVH and/or arrhythmia [5].

Echocardiography is the reference test in confirming the presence of LVH or other specific changes, provided pediatric anthropometric criteria are taken into account [23]. In addition to assessing structural parameters, patients with FD are evaluated for ventricular dysfunction. Early detection of left ventricular diastolic dysfunction is important for the treatment of patients with beta-blockers. Beta-blockers are also indicated in asymptomatic patients with diastolic dysfunction in the absence of LVH [25]. At the advanced stages of the disease, with the progression of heart remodeling, systolic dysfunction of the left ventricle is associated. Pathological remodeling of the heart, by definition, associated with the occurrence of fatal arrhythmias requiring specific therapy. In the advanced stages, implantation of devices will be performed to prevent sudden cardiac death. Adult patients benefit from all clinical and non-pharmacological treatment methods according to current recommendations [1].

Fibrosis is an advanced, irreversible cardiomyopathy indicator. Nuclear Magnetic Resonance (MRI) is a method of choice in the detection of fibrosis, pathophysiological modification characteristic of the late stage of cardiomyopathy. Descriptive signs and localizations for FD are described in the primary diagnosis (posterolateral, median and subepicardiac). A long-term study has demonstrated the utility of MRI in guiding substitution

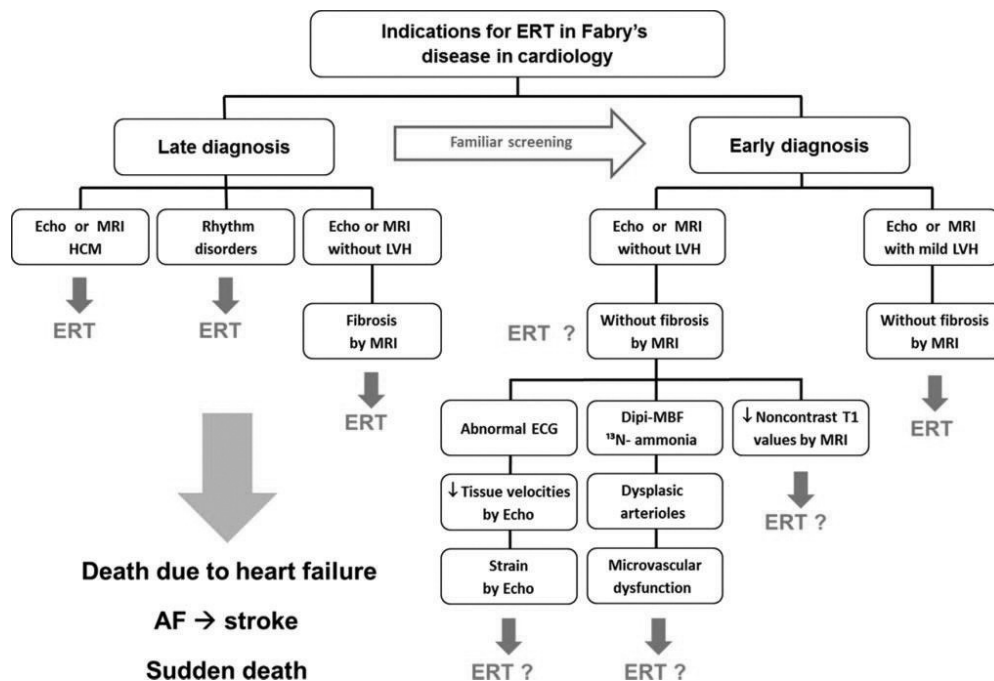
treatment, with appreciation of effects on the regression of histomorphological modifications of myocardial structures [12]. In this context, MRI performance is recommended for close relatives of patients for an early diagnosis of HCM. Clinical importance of serial MRI is confirmed by the improvement of cardiac changes on the background of treatment in localized fibrosis or without fibrosis, but in the presence of LVH in the spouse to improve cardiac function. Concomitantly, no improvement in left ventricular function was observed in patients with diffuse fibrosis, in whom the last treatment option remains transplantation [35]. A particular feature seen in young female patients is the initial development of fibrosis in the absence of LVH. The asymptomatic patient, but with MRI confirmed cardiac fibrosis, will be treated as early as possible [21,30]. Invasive diagnostic methods, especially endomyocardial biopsy, are rarely performed, preferentially in unclear cases, to differentiate the type of cardiomyopathy.

Fabry cardiomyopathy is an important and potentially reversible cause of heart failure that involves LVH, increased susceptibility to arrhythmias and valvular regurgitation. Genetic testing and cardiac MRI are important diagnostic tools, and Fabry cardiomyopathy is treatable if the therapy is early-introduced [27]. Children with classical FD, cardiac involvement includes unexplained, slower and more evolutionary LVH, HCM, rhythm and conduction disorders, but casuistic valvulopathy or dilatation of the aorta. The advantage of pediatric age is that the diagnosis can be early established in the preclinical stages and the chances of reversibility of

the morphological changes are greater. Assessing a child with FD involves complex cardiovascular investigations similar to adults. In the same time, children with HCM require genetic investigations to complete the diagnosis. The major objective in the management of children with FD and heart disease is the prevention of sudden cardiac death. Conventional anti-congestion medications have shown a significant rate of adverse effects in children with FD, although current recommendations do not exclude the use of ACEI (anti-conversion enzyme inhibitors, diuretics and beta-blockers. Propranolol or atenolol is indicated in obstructive forms of HCM, and carvedilol, due to its additional properties, can be administered as an additional anti-congestion treatment [33]. Amiodarone, due to the pharmacological properties of interference with lysosomal metabolism, is contraindicated in the treatment of arrhythmias in FD [1]. Selecting effective and harmless pharmacological treatment in this patient group remains an unresolved topic and requires controlled clinical trials. Prenatal diagnosis is indicated in high-risk groups with FD. Enzymatic activity of  $\alpha$ -galactosidase can be detected in the first trimester by villous cord biopsy or in the second trimester of pregnancy with the help of amniocenteses [12].

Recent observations support consideration for routine prospective screening for FD in all patients without a definitive etiology for LVH. This strategy would likely result, through cascade family testing, in the earlier identification of new FD-affected males and female heterozygotes who may benefit from monitoring and/or enzyme replacement therapy (ERT) [18].

**Figure 1. Indications for ERT in Fabry disease in cardiology. AF indicates atrial fibrillation; Dip-MBF, myocardial blood flow following dipyridamole infusion with <sup>13</sup>N-labeled ammonia by positron-emission tomography; ECG, electrocardiogram; Echo, echocardiogram; ERT, enzyme replacement therapy; HCM, hypertrophic cardiomyopathy; LVH, left ventricular hypertrophy; MRI, magnetic resonance imaging.**



### Conclusions.

Patients with FD require a multidisciplinary approach, including systematic cardiac evaluation. Enzyme measurements are sufficient in boys, but genetic testing is needed in girls. Cardiac pharmacological treatment in FD remains a challenging topic. The benefit of enzymatic treatment is evident in LVH variants. In the presence of fibrosis and arrhythmias, the risk of sudden cardiac death is increased, indicating the importance of initiating substitution treatment at preclinical stages, including pediatric patients [37] (figure 1).

### Bibliography:

- Acharya D, Doppalapudi H, Tallaj JA. Arrhythmias in Fabry cardiomyopathy. *Card Electrophysiol Clin*, 2015;7:283-291.
- Adalsteinsdottir B, Palsson R, Desnick RJ, et al. Fabry disease in families with hypertrophic cardiomyopathy: clinical manifestations in the classic and later-onset phenotypes. *Circ Cardiovasc Genet*, 2017;10: e001639.
- Anastasakis A, Elias S, Efstathios P, et al. Anderson-Fabry disease: a cardiomyopathy that can be cured. *Hellenic J Cardiol*, 2011;52:316-326.
- Arends M, Wanner C, Hughes D, et al. Characterization of classical and nonclassical Fabry disease: a multicenter study. *J Am Soc Nephrol*, 2017; 28:1631-1641.
- Biegstraaten M, Arngrimsson R, Barbey F, et al. Recommendations for initiation and cessation of enzyme replacement therapy in patients with Fabry disease: the European Fabry Working Group consensus document. *Orphanet J of Rare Dis*, 2015;10:36-45.
- Brakch N, Dormond O, Bekri S, et al. Evidence for a role of sphingosine-1 phosphate in cardiovascular remodeling in Fabry disease. *Eur Heart J*, 2011;31(1):67-76.
- Elliot P, Baker R, Pasquale F, et al. ACES Study Group. Prevalence of Anderson-Fabry disease in patients with hypertrophic cardiomyopathy: the European Anderson -Fabry Disease survey. *Heart*, 2011;97(23):1957-1960.
- Elliot PM, Anastaakis A, Borger MA, et al. ESC Guidelines for the Diagnosis and Management of Hypertrophic Cardiomyopathy. *Eur Heart J*, 2014;35:2733-2779.
- Favalli V, Disabella E, Molinaro M, Tagliani M. Genetic Screening of Anderson-Fabry Disease in Proband Referred From Multispecialty Clinics. *J Am Coll Cardiol*. 2016; 68(10):1037-5.
- Fernandez A, Politei J. Cardiac manifestation of Fabry disease: from hypertrophic cardiomyopathy to early diagnosis and treatment in patients without left ventricular hypertrophy. *J Inborn Errors Metabol*, 2016;4:1-9.
- Frustaci A, Morgante E, Russo MA, et al. Pathology and function of conduction tissue in Fabry disease cardiomyopathy. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2015;8:799-805.
- Germain DP, Charrow J, Desnick RJ, et al. Ten-year outcome of enzyme replacement therapy with agalsidase beta in patients with Fabry disease. *J Med Genet*, 2015; 52(5):353-358.
- Germain DP. Fabry disease. *Orphanet Journal of rare Diseases*, 2010;5:30-79.
- Hagege AA, Caudron E, Danny T, et al. FOCUS Study Investigators. Screening patients with hypertrophic cardiomyopathy for Fabry disease using a filter-paper test: the FOCUS study. *Heart*, 2011;97(2):131-136.
- Havndrup O, Christiansen M, Stoevrong B, et al. Fabry disease mimicking hypertrophic cardiomyopathy: genetic screening needed for establishing the diagnosis in women. *Eur J Heart Fail*; 2010;12:535-540.
- Linhart A, Kampmann C, Zamorano JL, et al. Cardiac manifestation of Anderson Fabry disease: results from the international outcome survey. *Eur Heart J*, 2007;28:1228-1235.
- Maron BJ, McKenna WJ, Danielson GK, et al. ACC/ESC clinical expert consensus document on hypertrophic cardiomyopathy: a report of the American College of Cardiology Task Force on Clinical Expert Consensus Documents and the European Society of Cardiology Committee for Practical Guidelines. *Eur Heart J*, 2003;124(21):1965-1991.
- Maron MS, Xin W, Sims KB, et al. Identification of Fabry disease in a tertiary referral cohort of patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Med*, 2018;131:22.e1-200.e8.
- Martins E, Pinho T, Carpenter S, et al. Histopathological evidence of Fabry disease in a female patient with left ventricular noncompaction. *Rev Port Cardiol*, 2014;33(9):565.
- Morrissey RP, Philip KJ, Schwarz ER. Cardiac abnormalities in Anderson-Fabry disease and Fabry's cardiomyopathy. *Cardiovasc J Afr*, 2011;22:38-44.
- Motwani M, Banypersad S, Woolfson P, et al. Enzyme replacement therapy improves cardiac features and severity of Fabry disease. *Mol Genet Metab*, 2012;107:197-202.
- Olivotto I, Cechi F, Poggesi C, et al. Patterns of disease progression in hypertrophic cardiomyopathy: an individualized approach to clinical staging. *Circ Heart Fail*, 2012;5(4):535-546.
- Park MK. The pediatric cardiology handbook, 5th edition, Philadelphia: Elsevier Saunders, 2016.
- Patel MR, Cecchi F, Cizmarik M, et al. Cardiovascular Events in patients with Fabry disease. *J Am Coll Cardiol*, 2011;57:1093-1099.
- Perrot A, Osterziel KJ, Beck M, et al. Fabry disease:

- focus on cardiac manifestations and molecular mechanisms. *Herz*, 2002;27:699-702.
26. Popescu V, Zamfirescu A. Bolile de tezaurizare lizozomală. *Revista Română de Pediatrie*, 2010; LIX(1):20-25.
  27. Purko BN, Wen K, Thompson RB, et al. Anderson-Fabry cardiomyopathy: prevalence, pathophysiology, diagnosis and treatment. *Heart Fail Rev*, 2015;20:179-191.
  28. Rombach SM, Dekker N, Bouwman MG, et al. Plasma globotriaosylsphingosine: diagnostic value and relation to clinical manifestation of Fabry disease. *Biochim Biophys Acta*, 2010,1802(9):741-748.
  29. Savary AL, Morello R, Langel C, et al. Enhancing the diagnosis of Fabry disease in cardiology with a targeted information: a before-after control-impact study. *Open Heart*; 2017;4e 000567.
  30. Sechi A, Nucifora P, Piccoli G, et al. Myocardial fibrosis in the first signs of cardiac involvement in a male patient with Fabry disease. *BMJ*, 2014;95:335-337.
  31. Seydelmann N, Wanner C, Störk S, et al. Fabry disease and the heart. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metabol*, 2015; 29:195–204.
  32. Shah JS, Hughes DA, Sachdev B, et al. Prevalence and clinical significance of cardiac arrhythmia in Anderson Fabry disease. *Am J Cardiol*, 2005;96:842-846.
  33. Sheppard MN. The heart in Fabry's disease. *Cardiovasc Pathol*, 2001;20(1):8-14.
  34. Smid BE, Van der Toi L, Cecchi F, et al. Uncertain diagnosis of Fabry disease consensus recommendations on diagnosis in adults with left ventricular hypertrophy and genetic variants of unknown significance. *Int J Cardiol*, 2014;177(2):400-408.
  35. Weidemann F, Niemann M, Breuing F, et al. Long-term effects of enzyme replacement therapy on fabry cardiomyopathy: evidence for a better outcome with early treatment. *Circulation*, 2009;119(4):524-529.
  36. Wilcox WR, Oliveira JP, Hopkin RJ, et al. Fabry Registry. Females with Fabry disease frequently have major organ involvement: lessons from the Fabry Registry. *Med Genet Metab*, 2008;93(2):592-601.
  37. Cairns T, Müntze J, Gernert J, et al. Hot in Fabry disease. *Postgrad Med J*, 2018;94:709–713.

© Daniela Blăniță<sup>1</sup>, Chiril Boiciuc<sup>1</sup>, Elena Samohvalov<sup>4</sup>, Victoria Sacară<sup>1</sup>, Natalia Barbova<sup>1</sup>,  
Svetlana Hadjiu<sup>4</sup>, Valentin Țurea<sup>4</sup>, Adela Stamati<sup>4</sup>, Alina Nicolescu<sup>5,6</sup>, Calin Deleanu<sup>5,6</sup>,  
Dirk Lefeber<sup>2</sup>, Eva Morava<sup>3</sup>, Natalia Ușurelu<sup>1\*</sup>

DANIELA BLĂNIȚĂ<sup>1</sup>, CHIRIL BOICIUC<sup>1</sup>, ELENASAMOHVALOV<sup>4</sup>, VICTORIA SACARĂ<sup>1</sup>,  
NATALIA BARBOVA<sup>1</sup>, SVETLANA HADJIU<sup>4</sup>, VALENTIN ȚUREA<sup>4</sup>, ADELA STAMATI<sup>4</sup>,  
ALINA NICOLESCU<sup>5,6</sup>, CALIN DELEANU<sup>5,6</sup>, DIRK LEFEBER<sup>2</sup>, EVA MORAVA<sup>3</sup>,  
NATALIA UȘURELU<sup>1\*</sup>

## CHALLENGES IN CLINICAL CONSIDERATIONS FOR CONGENITAL DISORDERS OF GLYCOSYLATION

- 1 - Institute of Mother and Child, Chisinau, Chisinau, Republic of Moldova;
- 2 - Translational Metabolic Laboratory, RadboudUMC, Nijmegen, Netherlands;
- 3 - Tulane Medical School, New Orleans, LA, SUA.
- 4 - "N. Testemitanu" State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;
- 5 - "Petru Poni" Institute of Macromolecular Chemistry, Romanian Academy, Iasi, Romania;
- 6 - "C. D. Nenitescu" Centre of Organic Chemistry, Romanian Academy, Bucharest, Romania.

### REZUMAT

#### PROVOCĂRI ÎN CONSIDERAȚIUNI CLINICE PRIVIND DIAGNOSTICUL DEREGLĂRILOR CONGENITALE ALE GLICOZILĂRII

Tulburările congenitale ale glicozilării (CDG) reprezintă un grup de patologii monogenice determinate de defecte genetice ce perturbă procesele de glicozilare cu importanță primordială în biosinteza glicoproteinelor și gliconjugatelor. Simptomatologia CDG sunt ultrarare, prevalența acestora fiind cuprinsă între 0.1-0.5/100.000 locuitori 70% corespunzând tipului CDG Ia (PMM2-CDG), cu o frecvență de 1:20.000 locuitori. Majoritatea tipurilor de CDG se prezintă prin afectări multisistemice (80% implică afecțiuni neurologice, 22% - hepatice, 20% - cardiace, 20% - dermatologice, 10% - imunologice, etc.), determinându-se o heterogenitate de simptome clinice deseori cu caracter invalidizant. Variabilitatea manifestărilor mimează alte patologii ceea ce reprezintă o provocare pentru clinicieni, deseori CDG fiind subdiagnosticată. Metoda de elecție pentru diagnosticul CDG este Focusarea Izoelectrică a Transferinei [IEFT], propusă ca instrument de screening încă din 1984 de către Jaeken. Un număr de 40 de pacienți moldoveni suspecti pentru CDG au fost trecuți prin screeningul IEFT în colaborare cu Laboratorul de Translare Metabolică Radboudumc, Nijmegen, Olanda și S.U.A. Manifestările clinice depistate la pacienții incluși în studiu au fost foarte variate. În urma screeningului prin IEFT s-a determinat: 37 profiluri normale și 3 anormale cu suspiciuni pentru CDG. Prezența Fructozemiei și a Galactozemiei, care induc tulburări secundare ale glicozilării au relevat un profil anormal al transferinei, de aceea este necesară excluderea acestora prin teste biochimice și secvențierea AND-ului. Varietatea manifestărilor clinice prezintă o provocare pentru diagnosticul CDG și chiar subdiagnosticarea acestuia.

**Cuvinte-cheie:** dereglări congenitale ale glicozilării, manifestări clinice, afectare multisistemică, maladie rară.

### РЕЗЮМЕ

#### НАРУШЕНИЕ ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЯ: ОТ МНОГООБРАЗИЯ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ К ДИАГНОЗУ

Врожденные нарушения гликозилирования (CDG) представляют собой группу моногенных патологий, вызванных генетическими дефектами, которые нарушают процесс гликозилирования, имеющий первостепенное значение в биосинтезе гликопротеинов и гликоконъюгатов. Большинство типов CDG очень редкие, их распространенность составляет от 0.1 до 0.5 на 100.000 населения, 70% соответствует CDG Ia типа (PMM2-CDG), с частотой 1: 20.000 населения. CDG проявляются мультисистемными расстройствами: неврологическими (80%), печеночными (22%), сердечными (20%), дерматологическими (20%), иммунологическими (10%) и др.), что приводит к гетерогенности клинических симптомов. Выборочным методом для диагностики CDG является изоэлектрическое фокусирование трансферина (IEFT). 40 молдавских пациентов с подозрением на CDG

были обследованы через IEFT в сотрудничестве с Лабораторией метаболической трансляции RadboudUMC, Неймеген, Нидерланды и США. Клинические проявления у пациентов, включенных в исследование, были разнообразными. После скрининга IEFT в 37 случаях определен нормальный профиль трансферина, а в 3 случаях – подозрение на CDG. Двоим из них были выставлены диагнозы фруктоземия и галактоземия. Эти патологии являются вторичными аномалиями гликозилирования и также характеризуются аномальным профилем трансферина. Клинический полиморфизм затрудняет диагностику CDG.

**Ключевые слова: врожденные нарушения гликозилирования, клинические проявления, мультисистемное вовлечение, редкое заболевание**

### Introduction

Congenital disorders of glycosylation (CDGs) represent a group of monogenic pathologies caused by genetic defects in various steps in the biosynthesis of glycoproteins and glycoconjugates in ER/GA. The group of these pathologies are divided into disorders of N-glycosylation, O-glycosylation, mixed (N- and O-glycosylation), glycosphingolipid and glycosylphosphatidylinositol (GPI-anchor) synthesis. The most of these monogenic diseases are autosomal recessive in inheritance, but autosomal dominant and X-linked forms have also been

described. The incidence and prevalence of all types of CDG have not been well established, although patients have been reported worldwide from almost every ethnic background and both sexes are equally affected. The estimated prevalence in European and African American populations is 1/10,000 based on carrier frequencies of known pathogenic variants in 53 genes. The prevalence of the most commonly diagnosed CDG, PMM2-CDG, ranges from 1/20,000 in Dutch populations and 1/77,000 in Estonia based on isolated reports [1]. According to the literature, there are reported over 150 CDG types

**Table 1. Clinical features suggestive for CDG**

Clinical features	Suspected CDG	Clinical features	Suspected CDG	Clinical features	Suspected CDG
Achalasia	GMPPA-CDG	Alacrima	GMPPA-CDG	Joint laxity	XYLT1-CDG
Anemia (dyserythropoietic)	SEC23B-CDG	Anorectal malformation	PIGV-CDG	Obesity	MAN1B1-CDG
Autonomic dysfunction	GMPPA-CDG	Behaviour disturbances	ALG6-CDG	Exostoses	EXT1-CDG EXT2-CDG
Bombay blood group	SLC35C1-CDG	Diaphragmatic hernia	PIGN-CDG	Myopathy	GNE-CDG
Calcinosis	GALNT3-CDG	Cardiomyopathy	ALG1-CDG DOLK-CDG DPM1-CDG DPM3-CDG PMM2-CDG	Liver fibrosis	CCDC115-CDG MPI-CDG PMM2-CDG TMEM199-CDG
Cataract	SRD5A3-CDG XYLT2-CDG	Coloboma	PIGL-CDG SRD5A3-CDG	Diarrhea (chronic)	ALG6-CDG ALG8-CDG MPI-CDG
Cerebrocostomandibular syndrom	COG1-CDG	Cutis aplasia	EOGT-CDG	Eye abnormality	B3GALT-CDG
Cutis laxa	ATP6AP1-CDG ATP6V0A2-CDG ATP6V1A-CDG ATP6V1E1-CDG COG7-CDG GORAB-CDG	Deafness sensorineural	ALG11-CDG CHSY1-CDG PIGL-CDG RFT1-CDG XYLT2-CDG	Brahidactily	ALG6-CDG CHSY1-CDG PIGV-CDG
Inverted nipples	PMM2-CDG	Limbs defects	EOGT-CDG	Uvula/palate cleft	PGM1-CDG
Dwarfism (adult)	FUT8-CDG NANS-CDG TMEM165-CDG	Myasthenia (congenital)	ALG2-CDG ALG14-CDG DPAGT1-CDG GFPT1-CDG	Ichthyosis	DOLK-CDG MPDU1-CDG PIGL-CDG SRD5A3-CDG
Retinitis pigmentosa	DHDDS-CDG	Hiperthermia (episodic)	COG7-CDG	Radio-ulnar synostosis	MGAT2-CDG
Hyper-/hypopigmentation	POFUT1-CDG POGLUT1-CDG	Fat pads	PMM2-CDG	Imune deficiency	MOGS-CDG PGM3-CDG SLC35C1-CDG

and 1350 patients diagnosed, with a distribution of 94% cases of CDG type I and 6% respectively CDG type II. With the development of metabolomics and glycomics, the number of CDG forms has increased exponentially, so that every 17 days a new form of CDG was confirmed in 2013, and in the first half of 2017, 5 new forms of CDG were detected [2,3]. Considering that at least 2% of the human genome encodes proteins involved in glycan biosynthesis and their recognition, and 5-10% of proteins are involved in homeostasis of Golgi apparatus with an effect on glycan metabolism, in the near future, will be reported new types of CDG [3].

For the first time, this group of pathologies was reported in 1980 by Jaeken, who in 2011 described CDG as “nearly the whole medicine in a nutshell” referring to its clinical heterogeneity (tab.1), which represents a real challenge for clinicians [4]. Most types of CDG are multisystem disorders, being involved almost all systems and organs, reflected by a variety of clinical symptoms (80% neurological manifestations, 22% - hepatic, 20% - cardiac, 20% - dermatological, 10%- immunological, etc.) and mimicking other pathologies which determines the underdiagnosis of CDG [5, 6,7, 8, 9]. The CDG diagnostic process is a complex one and includes biochemical screening methods to identify the glycosylation defect and analytical methods (mass spectrometry, whole exome/genome sequencing) to determine the causes and type of CDG [10,11,12]. The “gold standard” for CDG diagnosis is screening by isoelectric focusing of transferrin (IEFT). Following the IEFT analysis, two large groups of CDGs - CDGs type I and II can be established. The abnormal isoelectric profile of transferrin may also be

caused by secondary factors such as fructosemia, galactosemia, genetic polymorphism of transferrin, alcoholism, severe hepatic impairment, which mimics CDG at the biochemical level. The latter requires the use of specific methodologies to eliminate the influence of secondary factors on the final diagnosis [12].

**Material and methods**

By medical-genetic consultation in Genetic Department of Institute of Mother and Child from Chisinau, there were selected 40 Moldavian patients of various ages (2mo–15y) clinically suspected for CDG. The basic metabolic investigation was performed in all patients for differential diagnosis. The analysis of organic acids in urine was performed by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy at the “Petru Poni” Institute of Macromolecular Chemistry of Romanian Academy, Iasi, Romania. Screening for CDG by IEFT was performed for all our patients in collaboration with Translational Metabolic Laboratory Radboudumc, Nijmegen, Netherlands and U.S.A.

**Results**

Half of our reported patients had an early presentation with hypotonia, hepatomegaly, elevated transaminases, mild hypoglycemia and various cerebral MRI abnormalities (cerebellar atrophy, mega cisterna magna, cortical atrophy and encephalomalacia). Eleven children had dysmorphic features, failure to thrive and neurological manifestation (seizures, mental retardation, ataxia). As additional clinical presentations there were abnormal coagulation, stroke-like episodes, cardiac arrhythmia, cutis laxa, inverted nipples, anemia, strabismus and nystagmus (figure 2).

**Figure 2. Clinical manifestations of CDG suspected patients from Moldova**

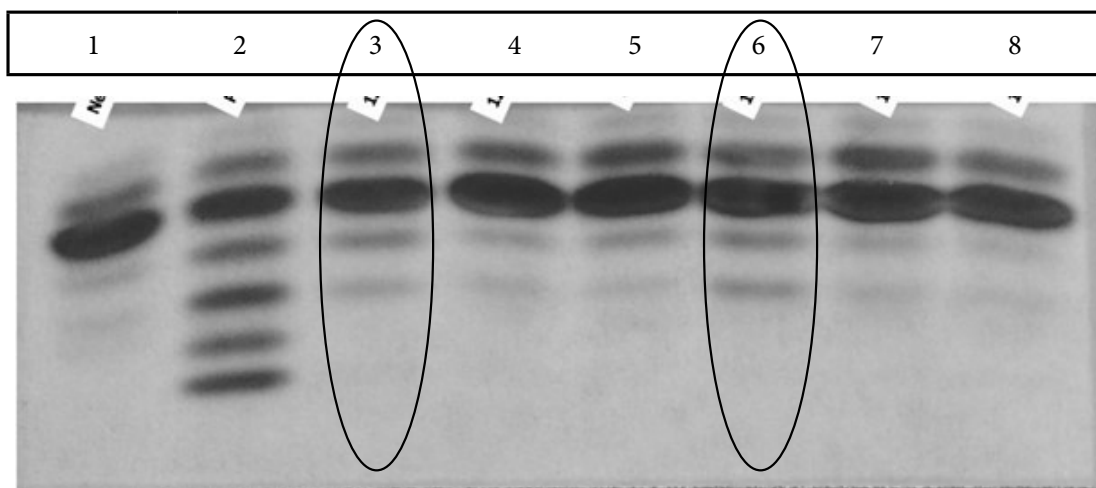
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	
Age (y/mo)	7mo	2mo	10mo	3mo	18m	14y	4y	10y	2y	8y	10mo	4y	2y	1y	1y	4y	3y	5y	5y	9mo	1y	3mo	1y	7y	1y	4mo	14y	10y	14y	6mo	2y	1y	2y	2y	1y	4y	3mo	4mo	2y		
Sex (M/F)	M	F	M	M	F	M	M	F	F	M	M	M	M	M	F	F	M	F	F	M	F	F	F	F	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	F		
Hypotonia																																									
Hepatomegaly																																									
Hypoglycemia																																									
ALAT/ASAT ↑																																									
Cerebral MRI	Hypogenesis of corpus callosum																																								
	Cerebellar atrophy																																								
	Cortical atrophy																																								
	Encephalomalacia																																								
	Mega cisterna magna																																								
Neurologic finding	Stroke like episodes																																								
	Strabismus																																								
	Nystagmus																																								
	Seizures																																								
	Ataxia																																								
Dysmorphic	Mental retardation																																								
	Inverted nipples																																								
	Cutis laxa																																								
Other																																									
Failure to thrive																																									
Anemia																																									
Abnor. coagulation																																									
Cardiac findings																																									



In all patients suspected for CDG the metabolic investigations (acid-base status, amino acids in blood and urine, organic acids in urine, acylcarnitine profile, coagulation studies) were performed for differential diagnosis. At the same time, the serum of suspected patients was analyzed by IEFT. In 37 cases there were obtained normal IEFT patterns, in other three patients the abnormal IEFT profile have been identified being suspected for CDG. In one positive IEFT patient there was determined the galactose and galactitol in urine by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy and these features were suggestive for Galactosemia, defined then by molecular analysis. In another one positive IEFT patient having the history of aversion to fructose-containing foods/sweets the diagnosis of Fructosemia was considered and then confirmed by DNA mutations analysis. These disorders are described having fals-positive IEFT results because of secondary abnormality of glycosylation. The last positive IEFT sample belonged to a boy born at term, from the 2<sup>nd</sup> normal pregnancy, born with normal body weight (3840g), in a non-consanguineous healthy family. From 5 months old

(L) and high number of platelet  $520 \times 10^9/L$  (ref.val. 150-400). Abdominal ultrasound revealed liver steatosis of 3<sup>rd</sup> degree. As the consequence,  $\alpha_1$ -antitrypsin deficiency, Gaucher Disease and Niemann-Pick A/B were excluded. Then, he was suspected for Congenital Disorders of Glycosylation and Fructose intolerance. His serum showed positive IEFT, but is necessary to make a differential diagnosis with Fructose intolerance because this pathology can determine a false-positive result of IEFT. First, it was tried fructose restricted diet for 1 month. As result, some clinical improvement like less nasal hemorrhages and no vomiting were observed, but liver ultrasound did not change. Then, the IEFT analysis was repeated and the type I patterns of carbohydrate-deficient transferrin identified on fructose-containing diet did not disappear after 4 weeks (fig 3). Another moment for diagnosis of CDG will be glycomics profile that is currently being performed in Translational Metabolic Laboratory Radboudumc, Nijmegen, Netherlands. But, a final diagnosis for Fructose intolerance can be established only by sequencing of ALDOB gene.

Figure 3. IEFT profiles: nr.3 - 1 mo after Fru-restricted diet, nr.6 - normal diet.



he presented hepatomegaly (+5cm) and elevated transaminases, being breastfed at that time. At the moment of consultation, he was presenting with episodes of vomiting, frequent nosebleeds, hepatosplenomegaly, failure to thrive (short stature and less body weight), cutis laxa, angular front skull, unstable stool with frequent diarrhea, rotten teeth. He does not like sweets, fruits and many vegetables. The basic metabolic investigation was initiated with the following changes: anemia, neutropenia 28.4 % (ref.val 30-75%), high Anion Gap -22.6 mmol/L (ref.val. 7-16 mmol/L), fasting hypoglycemia 70 mg/dL [3.85 mmol/L] (ref.val. 74-106 mg/dL), elevated transaminases, high TG [222 mg/dL (ref.val <150 mg/dL)] and low Iron [28.5  $\mu$ g/dL (ref.val 49-181  $\mu$ g/dL)]. Amino acids in blood and urine and acylcarnitine profile were not suggestive. The abnormal coagulation was determined: high - C protein - 200% (ref.val 70-130%), Factor X - 172% (ref.val. 75-130%), fibrinogen - 5.4 g/L (ref.val 2.0-4.0g/

### Discussions

CDG represent a group of monogenic pathologies with multisystem involvement predominantly neurologic. It is a challenge for a clinician due to his clinical chameleon manifestations that is why CDG is often underdiagnosed. In order to facilitate CDG diagnosis, there are reported some practical tools: (1) a list of clinical features strongly suggestive of a distinctive CDG; (2) a table of clinical, biochemical and laboratory findings reported in CDG, arranged per organ/system; (3) an overview of the affected organs/systems in each type of CDG; and (4) a diagnostic decision tree in face of a patient with a suspicion of CDG [1].

Taking into account multisystem impairment and clinical heterogeneity, the clinical criteria for suspicion of CDG must be very broad. Most important is to keep in mind a CDG in any unexplained syndrome, in particular when there is neurological involvement [1]. The „gold

standard” for diagnosis of CDG is screening by IEFT. But, is very important in the diagnostic process to exclude the secondary glycosylation abnormalities such as fructosemia, galactosemia, alcoholism, polymorphism of transferrin, severe liver disease, etc. In case of differential diagnosis between Hereditary fructose intolerance (HFI) and CDG we can try the analysis of transferrin isoform by IEFT on a fructose-free diet. In the literature there are reported two cases, that following the fructose restriction diet, the type I patterns of carbohydrate-deficient transferrin detected on fructose-containing diet disappeared after 3-4 weeks. These cases illustrate that HFI may show a misleading clinical manifestation and the IEFT may give important diagnostic clue. However, the clinician must be careful, not to misinterpret the transferrin abnormal profile as CDG IX, that why is needed the ALDOB mutation screening for HFI [13]. Therefore, in our patient which has been determined changes of transferrin profile, HFI exclusion by ALDOB gene sequencing is crucial.

### Conclusion

The CDG it is a group of rare diseases with multisystem involvement with a variety of symptoms that can determine misdiagnosis. Considering multisystem damage, there is recommended to suspect for CDG any unexplained neurological syndrome, particularly when there is associated with other organ disease, sometimes even without neurological involvement. In diagnosis of CDG by IEFT it is necessary to exclude the secondary abnormalities caused by Galactosemia, Fructosemia and other.

### Bibliography:

1. Francisco R, Marques-da-Silva D, Brasil S, Pascoal C, dos Reis Ferreira V, Morava E, et al. The challenge of CDG diagnosis [Internet]. *Molecular Genetics and Metabolism Elsevier Inc*; 2019 p. 1–5. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2018.11.003>.
2. Péanne R., P. de Lonlay, Foulquier F., Kornak U., et al. Congenital disorders of glycosylation (CDG): Quo vadis?, *Eur J. Med. Genet.* 2017; 1-14;
3. Freeze H. H., Chong J. C., Bamshad M. J., et al. Solving Glycosylation Disorders: Fundamental Approaches Reveal Complicated Pathways. *Am. J. of Hum. Genet.* 2014; 94, 161-175;
4. Jaeken J. Congenital disorders of glycosylation (CDG): it's (nearly) all in it! *J Inherit Metab Dis.* 2011 Aug;34(4):853-8. doi: 10.1007/s10545-011-9299-3;
5. Freeze H.H., Eklund E.A., Ng B.G., Patterson M.C. Neurological aspects of human glycosylation disorders. *Annu Rev Neurosci.* 2015 Jul 8;38:105-25. doi: 10.1146/annurev-neuro-071714-034019;
6. Marques-da-Silva D, Dos Reis Ferreira V, Monticelli M, et al. Liver involvement in congenital disorders of glycosylation (CDG). A systematic review of the literature. *J Inherit Metab Dis.* 2017;40:195–207
7. Rymen, D, Jaeken, Skin manifestations in CDG. *J Inherit Metab Dis.* 2014, 37; (5m): 699-708
8. Marques-da-Silva D., Francisco R., Webster D., Dos Reis Ferreira V., Jaeken J., Pulinilkunni T.. Cardiac complications of congenital disorders of glycosylation (CDG): a systematic review of the literature. *J Inherit Metab Dis.* 2017 Sep;40(5):657-672. doi: 10.1007/s10545-017-0066-y
9. Monticelli M., Ferro T., Jaeken J., Dos Reis Ferreira V., Videira P. Immunological aspects of congenital disorders of glycosylation (CDG): a review. *J Inherit Metab Dis.* 2016 Nov;39(6):765-780.
10. Marquardt T, Denecke J. Congenital disorders of glycosylation: review of their molecular bases, clinical presentations and specific therapies. *Eur J Pediatr.* 2003;162(6):359–79.
11. Melanie A J, Madhuri R H. Congenital Disorders of Glycosylation. In: Denecke J. *Molecular Pathology in Clinical Practice.* Second Edition. USA: Springer International Publishing 2016:121-125.
12. Marklova E, Albahri Z. Screening and diagnosis of congenital disorders of glycosylation. *Clin Chim Acta.* 2007; 385(1-2):6–20.
13. Adamowicz M., Płoski R., Rokicki D., Morava E., Gizewska M., Mierzewska H., Pollak A., Lefeber D.J., Wevers R.A., Pronicka E. Transferrin hypoglycosylation in hereditary fructose intolerance: using the clues and avoiding the pitfalls. *J Inherit Metab Dis.* 2007 Jun;30(3):407.

© Chiril Boiciuc<sup>1</sup>, Daniela Blăniță<sup>1</sup>, Elena Samohvalov<sup>3</sup>, Olga Tagadiuc<sup>3</sup>,  
Alina Nicolescu<sup>4,5</sup>, Călin Deleanu<sup>4,5</sup>, Ron Wevers<sup>2</sup>, Karin Huijben<sup>2</sup>,  
Dirk Lefeber<sup>2</sup>, Natalia Ușurelu<sup>1</sup>

CHIRIL BOICIUC<sup>1</sup>, DANIELA BLĂNIȚĂ<sup>1</sup>, ELENA SAMOHVALOV<sup>3</sup>, OLGA TAGADIUC<sup>3</sup>,  
ALINA NICOLESCU<sup>4,5</sup>, CĂLIN DELEANU<sup>4,5</sup>, RON WEVERS<sup>2</sup>, KARIN HUIJBEN<sup>2</sup>,  
DIRK LEFEBER<sup>2</sup>, NATALIA UȘURELU<sup>1</sup>

## DIAGNOSIS CHARACTERISTICS OF CONGENITAL DISORDERS OF GLYCOSYLATION OF 40 SUSPECTED PATIENTS FROM MOLDOVA

<sup>1</sup> - *Institute of Mother and Child, Chisinau, Republic of Moldova;*

<sup>2</sup> - *Translational Metabolic Laboratory, RadboudUMC, Nijmegen, Netherlands;*

<sup>3</sup> - *“N. Testemitanu” State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;*

<sup>4</sup> - *“Petru Poni” Institute of Macromolecular Chemistry, Romanian Academy, Iasi, Romania;*

<sup>5</sup> - *“C.D. Nenitescu” Centre of Organic Chemistry, Romanian Academy, Bucharest, Romania.*

### REZUMAT

#### CARACTERISTICILE DIAGNOSTICULUI DEREGLĂRILOR CONGENITALE ALE GLICOZILĂRII LA 40 DE PACIENȚI SUSPECȚI DIN MOLDOVA

**Introducere:** Erorile în sinteza, asamblarea și / sau procesarea glicanilor provoacă o familie de patologii genetice grupate într-o unitate nosologică sub denumirea de Dereglări Congenitale ale Glicozilării (CDG), actualmente fiind descrise în jur de 150 de tipuri. În orice stare clinică inexplicabilă este necesar de suspectat CDG, în special în cazul afectărilor multisistemice cu implicare neurologică. Metoda obișnuită pentru diagnosticarea CDG este investigarea transferinei serice prin focalizare izoelectrică (IEF). **Scopul:** Diagnosticul CDG la pacienții suspecți cu simptome de afectare multisistemică, bazată pe screeningul transferinei serice prin focalizare izoelectrică.

**Materiale și metode:** În studiul prezent au fost utilizate probe de ser recoltate de la 40 de pacienți cu vârste variate (2 luni - 15 ani) suspecți pentru CDG, care aveau hipotonie, convulsii, retard psihoneuromotor, caracteristici dismorfice cu implicare multisistemică. Pentru diagnosticul CDG, IEF al transferinei serice a fost efectuat în colaborare cu RadboudUMC, Nijmegen, Olanda. În unele cazuri, s-a utilizat tratamentul cu neuraminidază pentru a detecta polimorfismul genetic al transferinei care poate imita structura anormală a glicanului. În plus, s-a efectuat spectroscopia RMN a urinei pacienților cercetați pentru diagnosticarea erorilor înnăscute de metabolism, care pot imita un profil caracteristic pentru CDG.

**Rezultate:** Ca urmare a screeningului selectiv, 37 de pacienți aveau un profil normal al transferinei, în timp ce 3 probe au fost identificate cu profil anormal, sugestiv pentru CDG I. Galactozemia, fructozemia, alcoolismul pot exprima același profil de IEF ca și pentru CDG I. Probele celor trei pacienți au fost analizate prin metode biochimice și molecular-genetice care au identificat că la un pacient paternul anormal IEF a transferinei a fost cauzat de galactozemie, în timp ce la un altul de fructozemie. În cazul celui de-al treilea pacient rezultatele sugerează prezența CDG I și necesită o analiză avansată a profilului glicomic prin spectroscopia de masă.

**Concluzie:** Focalizarea izoelectrică a transferinei este instrumentul principal pentru diagnosticul CDG pentru multe laboratoare de screening datorită eficienței crescute la preț rezonabil, în comparație cu alte metode.

**Cuvinte-cheie:** Glicozilare, CDG, focalizare izoelectrică a transferinei, screening selectiv

## РЕЗЮМЕ

### ХАРАКТЕРИСТИКА ДИАГНОСТИКИ ВРОЖДЕННЫХ НАРУШЕНИЙ ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЙ У 40 ПОДОЗРЕВАЕМЫЕ БОЛЬНЫХ ИЗ МОЛДОВЫ

**Введение:** Нарушения синтеза, сборки и/или процессинга гликанов являются причиной группы генетических патологий метаболизма, называемых врождёнными нарушениями гликозилирования (ВНГ), типов которых на данный момент описано около 150. ВНГ следует подозревать при любой необъяснённой клинической патологии, особенно с полиорганным поражением с вовлечением нервной системы. Обычный метод диагностики ВНГ – исследование трансферрина в сыворотке крови методом изоэлектрического фокусирования (ИЭФ). **Цель:** Представление результатов ИЭФ трансферрина сыворотки крови 40 пациентов с полиорганными поражениями, с подозрением на ВНГ.

**Материалы и методы:** В представленном исследовании использовались сыворотки 40 педиатрических пациентов с подозрением на ВНГ, различного возраста (2 мес – 15 лет), с гипотонией, судорогами, задержкой психомоторного развития, признаками дизморфизма, нарушениями развития с полиорганный патологией. Для диагностики ВНГ ИЭФ трансферрина сыворотки производилось в сотрудничестве с RadboudUMC, Неймеген, Нидерланды. В некоторых случаях, использовалось лечение нейраминидазой с целью обнаружения генетического полиморфизма трансферрина.

**Результаты:** В результате селективного скрининга обнаружено, что у 37 пациентов с подозрением на ВНГ был нормальный профиль трансферрина, а в 3 образцах был обнаружен аномальный профиль, говорящий о возможности ВНГ I. К сожалению, анализ трансферрина методом ИЭФ имеет некоторые ограничения, в связи с фактом, что при галактоземии, фруктоземии и алкоголизме может обнаруживаться такой же профиль, как и при ВНГ I. Таким образом, данные пациенты были проанализированы с использованием биохимических и молекулярно-генетических методов, обнаруживших, что у одного пациента аномальный профиль ИЭФ трансферрина вызван галактоземией, а у другого пациента – фруктоземией. Последний пациент успешно прошёл данный тест, что говорит о наличии ВНГ I и необходимости определения профиля гликомики.

**Заключение:** ИЭФ трансферрина представляет собой основное средство диагностики ВНГ во многих лабораториях скрининга, в связи с экономической эффективностью по сравнению с другими методами

**Ключевые слова:** Гликозилирование, ВНГ, изоэлектрическое фокусирование трансферрина, селективный скрининг.

#### Introduction

Glycosylation represents a process of adding carbohydrate residues (glycans) to the protein molecule that physiologically occurs in approximately half of all proteins expressed in human cells. Formation of glycoproteins is characteristic for most extracellular proteins (ex. serum proteins), most membrane proteins and for several intracellular proteins like lysosomal enzymes. Depending on how the molecule of carbohydrate is linked to polypeptide chain we can distinguish two types of glycans: N-glycans where the sugar is linked to *Asn* aminoacid and O-glycans – in this case sugars bound to *Ser* and *Thr* [1].

Glycoproteins are widespread all over the human body and other living organisms realizing a crucial role for maintaining the life. They have a specific function that include glycoprotein targeting (e.g. most lysosomal enzymes) and adhesion of the cell to other cell or to extracellular matrix, and non-specific in which carbohydrate helps the protein in their correct folding obtaining its functional conformation, in increasing their secretion ca-

pability and in protection against proteolytic enzymes [2]. Process of glycosylation involves a vast variety of enzymes as glycosyltransferase family which catalyzes the glycan assembling and others that participate in formation of precursors and monomers used in formation of glycoproteins [2]. Therefore, errors in the synthesis assembly and/or processing of glycans due to defects in genes that encodes this enzymes provoke a family of metabolic genetic pathologies grouped together as Congenital Disorders of Glycosylations. From the moment of first description in 1980 until now, over 150 different types of Congenital Disorders of Glycosylation (CDG) have been described, most of them affecting the N-glycosylation pathway [3][4].

Clinical phenotype of CDG patients is very heterogeneous [5]. Therefore CDG should be considered in any unexplained clinical condition, particularly in multi-organ disease with neurological involvement [1][5]. First step in diagnosis of CDG is investigation of glycosylation state of serum transferrin by isoelectric focusing (IEF).

Although IEF of transferrin is not able to detect all types of CDG, it is widely used by many laboratories due to its cost efficiency compared with other methods making it accessible for most of screening laboratories [5][6]. Additionally in diagnostic algorithm it can be included also isoelectric focusing of serum apolipoprotein C-III which is only O-glycosylated and permits detection of some O-glycosylation disorders [7]. The final step confirming the diagnosis is performing of glycomics profiling using mass spectrometry and direct mutation analysis due to sequencing of panel of genes known to be involved in CDG or whole exome sequencing (WES) [1][5][6].

**The aim:** Identification of CDG through suspected patients with multi-organ involvement based on serum transferrin by isoelectric focusing screening.

### Materials and methods

In the present study the serum of 40 suspected CDG pediatric patients with various ages (2mo–15y) was used. Selection of clinically suspected cases was made through medical-genetic consultation in Genetic Department of Institute of Mother and Child, Chisinau, Moldova. Patients with hypotonia, seizures, psihoneuromotor retardation, dimorphic features, failure to thrive with multi-system involvement were suspected for CDG and were included in this research.

Isoelectric focusing of serum transferrin was performed in collaborations with Translational Metabolic Laboratory, Radboudumc, Nijmegen, Netherlands as described by Wopereis [7][8]. Serum samples were incubated for 30 min with 10 mM ferric citrate and 0.5 mM sodium hydrogen carbonate (2:1) in a ratio of 10:3 (serum to solution) to saturate the transferrin with iron. The iron-saturated serum was diluted 5 times with water and applied to a hydrated precast gel (pH 4–7) on an Ultraphore system (Amersham Pharmacia Biotech).

After IEF, the transferrin isoforms were detected by adding rabbit anti-human transferrin antibody (Agilent, USA) and the gels were stained with Coomassie blue. The relative amounts of the transferrin isoforms were deter-

mined by scanning the stained gel using an Image master Labscan, Ver. 3.00 (Amersham Pharmacia Biotech).

In some cases, it was used neuraminidase treatment to detect transferrin genetic polymorphism that can mimic abnormal glycan. Human serum was incubated with neuraminidase (5 kU/L) from Clostridium perfringens (Sigma; 5U in 0.5 mL 0.1 mol/L Tris, pH 7.0) overnight at room temperature. Samples were analyzed for transferrin IEF as described above.

### Results and discussions

As a result of selective screening by IEF transferrin method, 37 patients had a normal transferrin profile, while 3 samples were identified with abnormal profiles (tab.1).

During IEF method protein is segregated in a polyacrylamide gel with pH gradient by their isoelectric point. Serum transferrin being a glycoprotein has two fragments of glycan that end each with 2 moieties of sialic acids. A molecule of sialic acid is negatively charged, this greatly modifying the isoelectric point of transferrin molecule [5]. Normal transferrin IEF profile is represented by the presence of pronounced band characteristic to glycoprotein with 4 moieties of sialic acid (tetrasialotransferrin form). Additionally, sometimes can be seen weak band of protein with 3 (trisialotransferrin form) or 5 (pentasialo form) molecules of sialic acid. This fact shows that in normal condition, transferrin has a complete glycan but in the same time, low quantity of transferrin can be with reduced glycan structure [9].

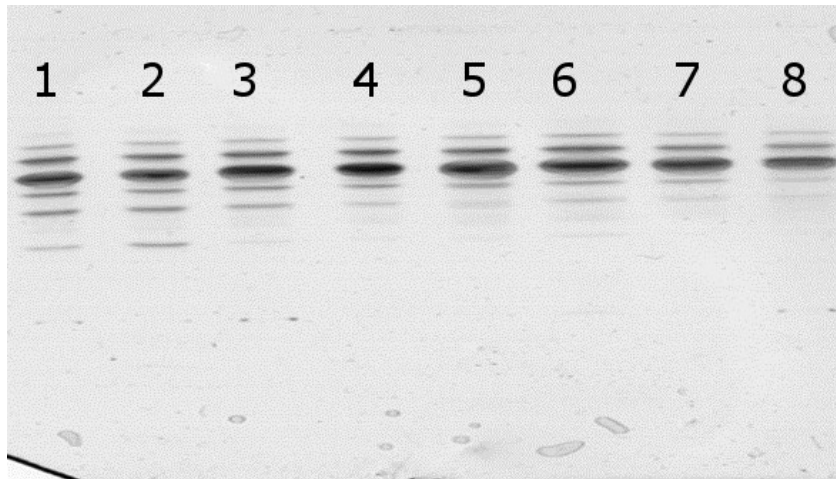
When the same uncharacteristic bands appear associated with tri-, di-, mono- and asialotransferrin form, it means that a defect in glycosylation pathway has occurred. Due to the IEF analysis of transferrin; two big groups of CDG – I and II can be distinguished. For CDG I there is characteristic presence of disialo- and asialotransferrin forms, but at the same time for CDG II, trisialo- and monosialotransferrin forms may occur [5][9].

According to the obtained electrophoregram, three patients with abnormal IEF transferrin profile were diagnosed. In these samples a band of disialo- and asialotransferrin was identified that is suggestive for CDG I.

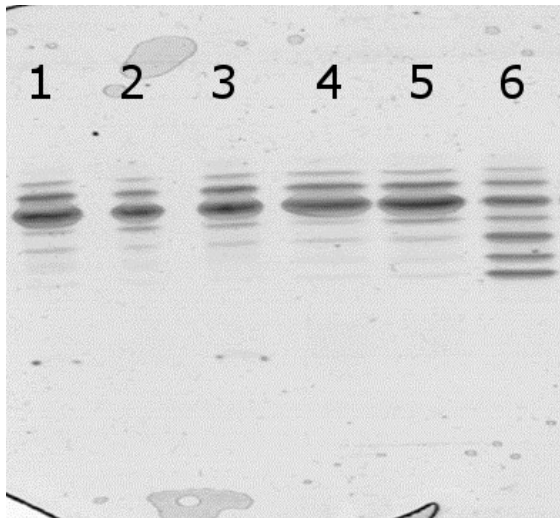
**Table 1. Results of IEF of transferrin on a 40 CDG suspected patients**

Patients code	IEFT Result	Patients code	IEFT Result	Patients code	IEFT Result	Patients code	IEFT Result
P1	normal	P11	normal	P21	normal	P31	normal
P2	normal	P12	normal	P22	normal	P32	normal
P3	normal	P13	normal	P23	normal	P33	normal
P4	normal	P14	normal	P24	normal	P34	normal
P5	normal	P15	normal	P25	normal	P35	normal
P6	normal	P16	Abnormal	P26	normal	P36	normal
P7	normal	P17	Abnormal	P27	normal	P37	normal
P8	normal	P18	Abnormal	P28	normal	P38	normal
P9	normal	P19	normal	P29	normal	P39	normal
P10	normal	P20	normal	P30	normal	P40	normal

**Fig. 1. IEF of transferrin: 1-3 abnormal profiles suggestive for CDG I; 4-5 normal transferrin profile**



**Fig. 2. IEF of transferrin: 1-5 normal transferrin profile; 6 – control sample with abnormal profile suggestive for CDG II.**



Unfortunately, IEF analysis of transferrin has the same pitfalls due to the fact that galactosemia, fructosemia, alcoholism can express the same profile as for CDG I. Supplementary to this, in some cases, mutations that lead to amino acid changes in transferrin may alter the charge of the protein, thereby leading to shifts in the IEF pattern, which mostly resemble to either tri- or pentasialo- transferrin, resulting into transferrin polymorphism.

Therefore for confirmation of diagnosis for CDG I, the samples of these three patients were analyzed by biochemical and molecular genetics methods for galactosemia and fructosemia. In this order the samples of urine from suspected patients have been analyzed by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy and the metabolites as galactose and galactitol have been identified in one patient, galactosemia being confirmed then by molecular analysis (P17). In the other one patient (P16) the molecular analysis obtained in accordance with clinical features revealed that abnormal transferrin IEF pattern was caused by fructosemia, in

this cases CDG I was not confirmed. In contrast to those two patients the third one, successfully pass galactosemia and fructosemia test and even neuraminidase assay that could help in identification of amino acid changes in transferrin molecule. This fact suggests that this patient has a CDG I which requires analysis of glycomics profiling using mass spectrometry to establish the structure of the defective glycan that will help in determining the type of CDG. This investigation is undergoing in Radboudumc, Nijmegen, Netherlands.

#### Conclusion

- The CDG is relatively new discovered pathologies affecting many organs due to widespread all over the human body of different glycoprotein that have a crucial function in maintaining life.
- IEF of transferrin is main tool for diagnosis of CDG for many screening laboratories due to its cost efficiency compared with other methods.
- Before considering the positive result of transferrin IEF, should exclude the secondary abnormalities caused by Galactosemia, Fructosemia and other.
- Although IEF of transferrin is good screening test, the final diagnostic step includes analysis of the structure of the defective glycan by mass spectrometry and mutational assays using NGS platform.

#### Bibliography:

- [1] Saudubray J.; Baumgartner M. R.; Walter J., "Inborn Metabolic Diseases" ISBN 978-3-662-49769-2, p. 607-623, 2016.
- [2] Bili R. M.; Revers L.; Wilson I. "Protein glycosylation", ISBN 978-1-4613-7241-7, 1998
- [3] Freeze H. H.; Chong J. X.; Bamshad M. J.; Ng B. G., "Solving Glycosylation Disorders: Fundamental Approaches Reveal Complicated Pathways," *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 94, no. 2, p. 161-175, 2014.
- [4] Ng B. G.; Freeze H. H., "Perspectives on Glycosylation and Its Congenital Disorders," *Trends Genet.*, vol. 34(6), p. 466-476., 2018.

- [5] Blau N.; Duran M.; Gibson M., "Laboratory Guide to the Methods in Biochemical Genetics" ISBN 978-3-540-76697-1, p. 379-416, 2008.
- [6] Van Tol W.; Wessels H.; Lefeber D. J., "O -glycosylation disorders pave the road for understanding the complex human O -glycosylation machinery," *Curr. Opin. Struct. Biol.*, vol. 56, p. 107-118, 2019.
- [7] Wopereis S.; Morava E.; Grunewald S.; Mills P. B., Winchester B. G., "A combined defect in the biosynthesis of N- and O-glycans in patients with cutis laxa and neurological involvement: the biochemical characteristics," *Biochim. Biophys. Acta*, vol. 1741, p. 156-164, 2005.
- [8] Wopereis S.; Grunewald S.; Huijzen K.; Morava E.; Lefeber D. J.; Wevers R., "Transferrin and Apolipoprotein C-III Isofocusing Are Complementary in the Diagnosis of N- and O-Glycan Biosynthesis Defects," *Clin. Chem.*, vol. 187, pp. 180-187, 2007.
- [9] Marquardt T.; Denecke J. "Congenital disorders of glycosylation: Review of their molecular bases , clinical presentations and specific therapies clinical presentations and specific therapies," *Eur J Pediatr*, vol. 162, p. 359-379, 2003

DOINA ȚURCAN\*, DANIELA BLĂNIȚĂ, NATALIA UȘURELU, VICTORIA SACARĂ\*

## METHODOLOGICAL APPROACHES IN THE MOLECULAR GENETIC ANALYSIS OF MITOCHONDRIAL DNA IN PATIENTS WITH COMMON CLINICAL FEATURES OF MITOCHONDRIAL DISEASE

*Institute of Mother and Child, Chisinau, Republic of Moldova*

### REZUMAT

#### ABORDĂRI METODOLOGICE ÎN ANALIZA MOLECULAR-GENETICĂ A ADN-ULUI MITOCHONDRIAL LA PACIENȚII CU SIMPTOMATOLOGIA CARACTERISTICĂ DEREGLĂRILOR MITOCHONDRIALE

**Introducere.** Bolile mitocondriale sunt una dintre cele mai frecvente erori înnăscute ale metabolismului, cu o prevalență estimată de aproximativ 1: 5.000. Disfuncția mitocondrială poate apărea din cauza unor defecte ale genelor din ADN-ul mitocondrial și nuclear care codifică proteine mitocondriale structurale sau cele implicate în funcția mitocondrială.

**Scopul:** Detectarea și cuantificarea heteroplasmiei ADN-ului mitocondrial la pacienții cu simptomatologia caracteristică dereglărilor mitocondriale.

**Materiale și metode.** Studiul a implicat un grup de cercetare format din 20 de pacienți cu simptomatologia caracteristică dereglărilor mitocondriale și 10 persoane sănătoase ca grup de control. Tehnica ARMS PCR a fost realizată pentru toate probele din grupul de studiu și din grupul control. Ulterior, s-a aplicat tehnica ARMS-qPCR doar în cazurile în care mutația a fost detectată prin tehnica ARMS PCR.

**Rezultate.** Tehnica ARMS-PCR, efectuată la ambele grupuri de cercetare, a determinat prezența mutației 3243A>G la toate persoanele din grupul de studiu și cel de control și mutația 3460G>A la 4 pacienți din grupul de studiu. Datele preliminare cu privire la analiza heteroplasmiei ADN-ului mitocondrial au relevat un nivel înalt de heteroplasmie (55-78%) la 5 pacienți cu mutația 3243A>G și la 4 pacienți cu mutația 3460 G>A, fiind în concordanță cu semnele clinice.

**Concluzii.** Metoda ARMS-qPCR este o tehnică simplă, eficientă din punctul de vedere al timpului și costului, comparativ cu alte metode.

**Cuvinte-cheie:** ADN mitocondrial, mutații punctiforme, ARMS-qPCR, heteroplasmie.

### РЕЗЮМЕ

#### МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ В МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК У ПАЦИЕНТОВ С КЛИНИЧЕСКИМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ

**Введение:** Митохондриальные заболевания являются одним из наиболее распространенных врожденных нарушений обмена веществ, с распространенностью приблизительно 1: 5000. Митохондриальная дисфункция может возникать из-за дефектов генов в митохондриальной и ядерной ДНК, которые кодируют структурные митохондриальные белки или белки, участвующие в митохондриальной функции. **Цель:** выявление и количественная оценка гетероплазмической мутантной митохондриальной ДНК у пациентов с клиническими проявлениями митохондриальной болезни.

**Материалы и методы:** В исследовании участвовала группа из 20 пациентов с клиническими проявлениями митохондриальной болезни и 10 здоровых персон в качестве контрольной группы. Метод ARMS-PCR был выполнен для всех образцов из исследовательской группы и контрольной группы. Далее, был проведен анализ ARMS-qPCR только в тех случаях, когда мутация была идентифицирована методом ARMS-PCR.



**Результаты:** Метод ARMS-PCR был выполнен у субъектов обеих исследовательских групп и было определено наличие мутации 3243 A> G у всех субъектов в группе исследования и контроля, и мутации 3460 G> A у 4 пациентов исследовательской группы. Предварительный анализ уровня гетероплазмии выявил высокую степень гетероплазмии (55-78%) у 5 пациентов с мутацией 3243 A> G и у 4 пациентов с мутацией 3460 G> A в соответствии с клиническими проявлениями.

**Заключение:** Метод ARMS-qPCR удобен в использовании, экономичен и эффективен по сравнению с другими методами для определения гетероплазмии.

**Ключевые слова:** митохондриальная ДНК, точечные мутации, ARMS-qPCR, гетероплазмия.

### Introduction.

The mitochondrion is a highly specialized organelle, present in almost all eukaryotic cells and principally charged with the production of cellular energy through oxidative phosphorylation (OXPHOS). In addition to energy production, mitochondria are also key components in calcium signalling, regulation of cellular metabolism, haem synthesis, steroid synthesis and, perhaps most importantly, programmed cell death (apoptosis) [1]. Mitochondrial DNA is a maternally inherited, circular double-stranded molecule of 16 569 base pairs, encoding 37 genes (13 proteins of the OXPHOS system, 2 rRNAs, and 22 tRNAs) [2].

Mitochondrial diseases are one of the most common inborn errors of metabolism, with a conservative estimated prevalence of approximately 1:5,000 [3]. Mitochondrial function is under dual genetic control – the 16.6-kb mitochondrial genome and the nuclear genome, which encodes the remaining ~1300 proteins of the mitoproteome. Mitochondrial dysfunction can arise because of defects in either mitochondrial DNA or nuclear mitochondrial genes, and can present in childhood or adulthood in association with vast clinical heterogeneity, with symptoms affecting a single organ or tissue, or multisystem involvement [2]. Clinical symptoms can arise in childhood or later in life, and can affect one organ in isolation or be multisystemic [4]; the minimum disease prevalence in adults is ~12.5 per 100 000, and ~4.7 per 100 000 in children [3]. Nuclear DNA defects tend to be autosomal recessive and are transmitted in a Mendelian fashion where half of the genetic material of a fertilized egg derives from each parent. Since the egg has multiple mitochondria while sperm has virtually none, mutations of mitochondrial genes in mtDNA are transmitted through the maternal line, or they may be sporadic. The number of mitochondria within cells varies depending on the energy needs of the cells. Cells which have more ATP requirements will have more mitochondria. As an example, muscle cells and heart muscle cells need more energy than the cells of the liver and have more mitochondria to generate more ATP. The heart muscle cells have about 5,000 mitochondria and each liver cell contains 1,000–2,000 mitochondria [5]. Point mutations and large-scale mtDNA deletions represent the two most common causes of primary mtDNA disease, the former usually being maternally

inherited, and the latter typically arising de novo during embryonic development [2]. The multicopy nature of mtDNA gives rise to heteroplasmy, a unique aspect of mtDNA-associated genetics that occurs when there is coexistence of a mix of mutant and wild-type mtDNA molecules (heteroplasmy). In contrast, homoplasmy occurs when all of the mtDNA molecules have the same genotype. Heteroplasmic mutations often have a variable threshold, i.e. a level to which the cell can tolerate defective mtDNA molecules [6]. When the mutation load exceeds this threshold, metabolic dysfunction and associated clinical symptoms occur. The degree of mtDNA mutant heteroplasmy can vary significantly across different tissues of the same individual, and the percentage of a mutation is an important contributor to the clinical phenotype [7]. Due to heteroplasmy, mitochondrial disease takes many forms and even family members may present differently with the disease. Determination of the heteroplasmic status of any mtDNA mutation is clinically important to providing a family with informative genetic counseling regarding recurrence risk. Therefore, accurate measurement of heteroplasmy is an essential component of the molecular diagnostic scheme for mtDNA-related disorders. Methods widely used to detect heteroplasmic mutations include Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP), direct sequencing, TaqMan allelic discrimination analysis, Amplification Refractory Mutation System Quantitative Polymerase Chain Reaction (ARMS-qPCR), and PCR/allele-specific oligonucleotide (ASO) dot blot hybridization [8]. ARMS-qPCR is a cost-effective method that measures the relative amount of wild-type and mutant mtDNA in a single step.

The most common mitochondrial diseases are MELAS syndrome (Mitochondrial Encephalopathy, Lactic acidosis, Stroke-like episodes), LHON syndrome (Leber's Hereditary Optic Neuropathy), Leigh syndrome, NARP syndrome (Neuropathy, Ataxia, Retinitis Pigmentosa). The presence of mitochondrial diseases presents a social problem, leading to substantial direct and indirect costs of medical care for the patient and for society as a whole. Genetic testing for mitochondrial diseases is important because it allows early access to standard care, avoiding invasive investigations and significant impact on the evolution of the disease, but also genetic counseling of the family.

**The aim:** Detection and quantification of heteroplasmic mutant mitochondrial DNA in patients with common clinical features of mitochondrial disease.

**Materials and Methods.** Patients were referred to the Human Molecular Genetics Laboratory at the Institute of Mother and Child, for genetic counseling. The most frequent mutations involved in occurrence of mitochondrial disease (MT-TL1-3243A>G, MT-ND1-13513G>A, MT-ND1-3460G>A, MT-ND4-11778G>A, MT-ND6-14484T>C, MT-ATP6-8993T>C, MT-ATP6-

mutant sequence, only in cases where the mutation was identified by ARMS PCR technique. The ARMS qPCR was run in Applied Biosystems™ 7500 Real-Time PCR System using 7500 Software (Version 3.2). The percentage of mutation heteroplasmy was calculated by  $\Delta C_T (C_T^{wild-type} - C_T^{mutant})$ . Mutation % =  $1/[1+(1/2)^{\Delta C_T}] \times 100\%$ . The threshold cycle ( $C_T$ ) is the cycle at which a significant increase in the reaction product is first detected. The higher the initial amount of DNA, the sooner accumulated product is detected in the PCR process and the lower the  $C_T$  value.

**Table 1. Primer sequences for ARMS PCR**

Name	Forward/ Reverse	Sequence	Size (pb)
MT-TL1-3243A>G	Forward wild-type	AGGGTTTGTTAAGATGGCtcA	97
	Forward mutant	AGGGTTTGTTAAGATGGCtcG	
	Reverse	TGGCCATGGGTATGTTGTTA	
MT-ND1 -13513G>A	Forward wild-type	CTCACAGGTTTCTACTCCAAtG	145
	Forward mutant	CTCACAGGTTTCTACTCCAAtA	
	Reverse	TTCTTCTCACCCCTAACAGGTC	
MT-ND1 -3460G>A	Forward wild-type	TACTACAACCCTTCGCTGcCG	120
	Forward mutant	TACTACAACCCTTCGCTGcCA	
	Reverse	GTAGAAGAGCGATGGTGAGAGCTAAG	
MT-ND4 -11778G>A	Forward wild-type	ACGAACGCACTCACAGTgG	143
	Forward mutant	ACGAACGCACTCACAGTgA	
	Reverse	CACAGAGAGTTCTCCCAGTAGGTTAA	
MT-ND6 -14484T>C	Forward wild-type	GTAGTATATCCAAAGACAACgAT	161
	Forward mutant	GTAGTATATCCAAAGACAACgAC	
	Reverse	GGGTTTCTTCTAAGCCTTCTCC	
MT-ATP6 - 8993T > C	Forward wild-type	TACTCATTCAACCAATAGCCaT	75
	Forward mutant	TACTCATTCAACCAATAGCCaC	
	Reverse	TTAGGTGCATGAGTAGGTGGC	
MT-ATP6 - 8993T > G	Forward wild-type	TACTCATTCAACCAATAGCCaT	75
	Forward mutant	TACTCATTCAACCAATAGCCaG	
	Reverse	TTAGGTGCATGAGTAGGTGGC	

8993T>G) were verified by ARMS-PCR technique in a research group of 20 patients presenting common clinical features of mitochondrial disease and 10 healthy persons as control group. Total DNA was isolated from peripheral blood lymphocytes by a salting-out method. The ARMS PCR technique was performed for all samples from the study group and from the control group. ARMS PCR primers are able to discriminate a single nucleotide change on the template DNA due to the absence of 3' exonucleolytic proofreading activity associated with Taq DNA polymerase. Under appropriate conditions, oligonucleotides containing a mismatched 3' -residue are unable to function as primers. Introducing a mismatched nucleotide immediately 5' to the mutation site will further increase target DNA amplification specificity. ARMS primers for PCR analysis of seven common mtDNA point mutations used in the study are listed in Table 1 [9][10][11][12].

Subsequently, the real time ARMS qPCR assay was performed in duplicates for each wild-type and

## Results.

The ARMS-PCR technique was performed in patients presenting common clinical features of mitochondrial disease and in healthy persons in the control group. It was determined the presence of the 3243 A>G mutation in all persons in the research and control group and the 3460 G>A mutation in 4 patients of the research group.

Preliminary analysis of heteroplasmy level revealed a high degree of heteroplasmy in 5 patients with 3243 A>G mutation, indicating the presence of MELAS syndrome, a multisystem disorder characterized by stroke-like episodes, encephalopathy with seizures and/or dementia, lactic acidosis, muscle weakness and exercise intolerance, recurrent vomiting, hearing impairment, peripheral neuropathy, and learning disability (Fig. 1-3).

MT-ND1 - 3460 G>A mutation was established in 4 patients of the study group, which confirms the presence of LHON syndrome, a disorder with bilateral loss of central vision predominantly in young males (Fig. 4-6).

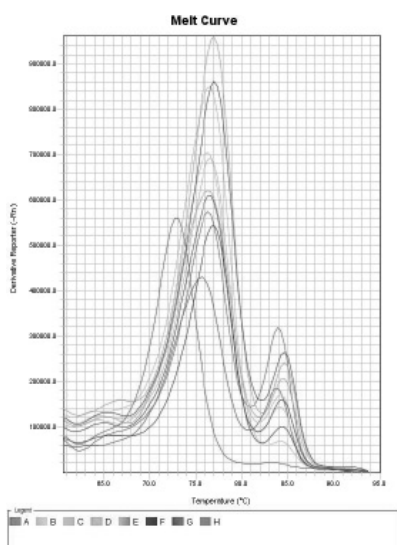


Fig. 1. Melting curve of internal control - albumin

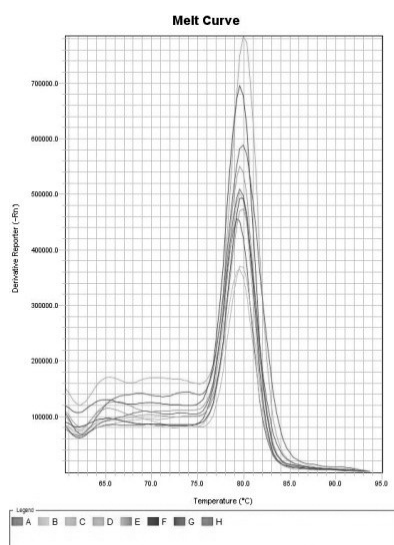


Fig. 2. Melting curve of mutant primer, 3243 A>G mutation

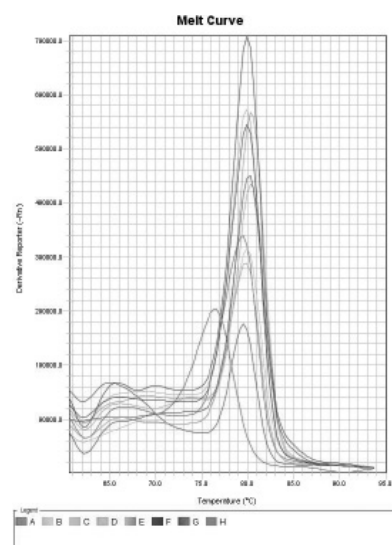


Fig. 3. Melting curve of wild-type primer, 3243 A>G mutation

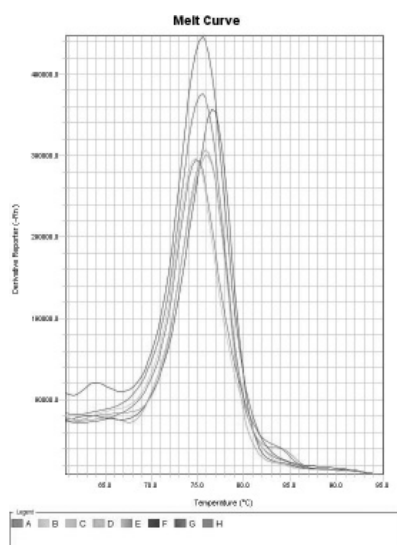


Fig. 4. Melting curve of internal control - albumin

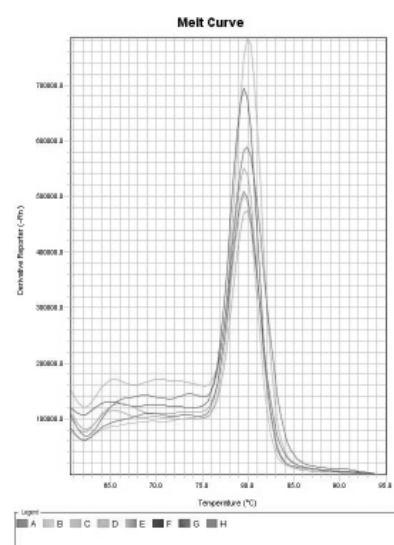


Fig. 5. Melting curve of mutant primer, 3460 G>A mutation

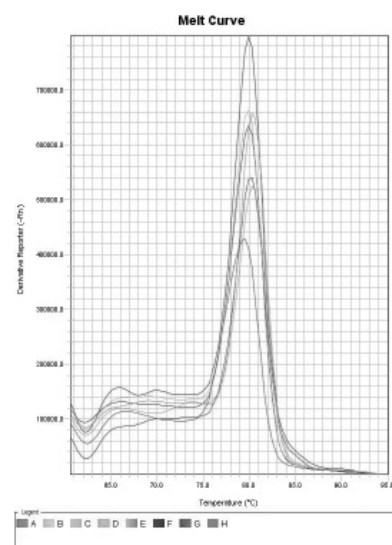


Fig. 6. Melting curve of wild-type primer, 3460 G>A mutation

**Conclusions.** The real-time ARMS-qPCR method provides a simple, easy-to-read output that is cost- and time-effective, thus providing an alternative method to individual endpoint PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) or PCR followed by Sanger sequencing. The ARMS-PCR technique was performed in subjects of both research groups, determining the presence of the 3243 A>G mutation in all persons in the research and control group and the 3460 G>A mutation in 4 patients of the research group. Preliminary analysis of heteroplasmy level revealed a high degree of heteroplasmy (55-78%) in 5 patients with 3243 A>G mutation and 4 patients with 3460 G>A mutation, being in accordance with clinical manifestations. The control group had a low-level of heteroplasmy, which implies the absence of clinical features of mitochondrial diseases.

**Bibliography:**

- [1] J. R. Friedman and J. Nunnari, "Mitochondrial form and function," *Nature*. 2014, doi: 10.1038/nature12985.
- [2] C. L. Alston, M. C. Rocha, N. Z. Lax, D. M. Turnbull, and R. W. Taylor, "The genetics and pathology of mitochondrial disease," *Journal of Pathology*. 2017, doi: 10.1002/path.4809.
- [3] G. S. Gorman *et al.*, "Prevalence of nuclear and mitochondrial DNA mutations related to adult mitochondrial disease," *Ann. Neurol.*, 2015, doi: 10.1002/ana.24362.
- [4] R. N. Lightowlers, R. W. Taylor, and D. M. Turnbull, "Mutations causing mitochondrial disease: What is new and what challenges remain?," *Science*. 2015, doi: 10.1126/science.aac7516.

- [5] A. S. Ahuja, "Understanding mitochondrial myopathies: A review," *PeerJ*, 2018, doi: 10.7717/peerj.4790.
- [6] J. B. Stewart and P. F. Chinnery, "The dynamics of mitochondrial DNA heteroplasmy: Implications for human health and disease," *Nature Reviews Genetics*. 2015, doi: 10.1038/nrg3966.
- [7] G. B. Stefano and R. M. Kream, "Mitochondrial DNA heteroplasmy in human health and disease (Review)," *Biomedical Reports*. 2016, doi: 10.3892/br.2016.590.
- [8] V. Venegas and M. C. Halberg, "Quantification of mtDNA mutation heteroplasmy (ARMS qPCR)," *Methods Mol. Biol.*, 2012, doi: 10.1007/978-1-61779-504-6\_21.
- [9] R. K. Bai and L. J. C. Wong, "Detection and quantification of heteroplasmic mutant mitochondrial DNA by real-time amplification refractory mutation system quantitative PCR analysis: A single-step approach," *Clin. Chem.*, 2004, doi: 10.1373/clinchem.2004.031153.
- [10] S. E. Ryan, F. Ryan, V. O'Dwyer, and D. Neylan, "A real-time ARMS PCR/high-resolution melt curve assay for the detection of the three primary mitochondrial mutations in Leber's hereditary optic neuropathy," *Mol. Vis.*, 2016.
- [11] J. Wang, V. Venegas, F. Li, and L. J. Wong, "Analysis of mitochondrial DNA point mutation heteroplasmy by ARMS quantitative PCR," *Curr. Protoc. Hum. Genet.*, 2011, doi: 10.1002/0471142905.hg1906s68.
- [12] L.-J. W. Ariel Brautbar, Jing Wang, Jose E. Abdenur, Richard C. Chang, Janet A. Thomas, Theresa A. Grebe, Cynthia Lim, Shao-Wen Weng, Brett H. Graham, "The mitochondrial 13513G>A mutation is associated with Leigh disease phenotypes independent of complex I deficiency in muscle," *Mol. Genet. Metab.*, vol. 94, pp. 485-490, 2008, doi: 10.1016/j.ymgme.2008.04.004.

MARIA SCURTUL, CHIRIL BOICIUC\*, DANIELA BLĂNIȚĂ,  
VICTORIA SACARĂ, NATALIA UȘURELU\*

## PHENOTYPE PREDICTION IN PHENYLKETONURIA PATIENTS FROM MOLDOVA BASED ON GENOTYPE DATA

*Institute of Mother and Child, Chisinau, Republic of Moldova*

### REZUMAT

#### PREDICȚIA FENOTIPULUI LA PACIENȚII CU FENILCETONURIE DIN MOLDOVA ÎN BAZA GENOTIPULUI

**Introducere:** Fenilcetonuria (PKU) este o boală metabolică autozomal recesivă, cauzată de deficiența enzimei fenilalaninhidroxilaza ca urmare a mutațiilor din gena PAH. Luând în considerare, că celulele nervoase sunt cele mai sensibile la efectele toxice ale nivelurilor ridicate ale fenilalaninei serice, retardul mental este unul din cele mai proeminente manifestări ale bolii. Tipul mutației din gena PAH influențează activitatea metabolică restantă a enzimei fenilalaninhidroxilaza.

**Scopul:** Estimarea fenotipului prezis în raport cu genotipul la pacienții cu PKU din Republica Moldova, pe baza diferitor programe de predicție.

**Material și metode:** În prezentul studiu au fost folosite datele a 9 pacienți cu PKU, diagnosticați prin screeningul neonatal (>3 mg/dL) în perioada 2018-2019, la care s-au analizat mutațiile în gena PAH. Pentru estimarea fenotipului acestor pacienți a fost folosită metoda valorii arbitrare (AV). A doua metodă a constat în utilizarea instrumentului online BIOPKU (BIOPKU; <http://www.biopku.org>). Identificarea mutațiilor frecvente s-a realizat prin metoda PCR/RFLP (p.R408W, p.P281L, p.L48S, p.R252W, p.R158Q, p.R261Q), iar pentru detectarea mutațiilor mai rare s-a efectuat secvențierea unor exoni din gena PAH.

**Rezultate:** Utilizând datele despre genotipurile patologice identificate la cei 9 pacienți cu PKU investigați, a fost estimat fenotipul lor. Metoda de predicție AV a dat rezultate în care 66.7% din pacienți aveau forma clasică a PKU, pe când în 33.3% de cazuri a fost detectat fenotipul cu PKU moderată, nefiind prezise fenotipuri cu hiperfenilalaninemie (HPA). Cea de-a doua metodă, ce implica utilizarea bazei de date BIOPKU, a fost folosită în cazul a 8 genotipuri din 9 din cauza lipsei informației despre o combinație de alele. Genotipurile celor 8 pacienți au fost estimate ca tipice PKU clasice. Nu au fost înregistrate cazuri de formă moderată a PKU sau hiperfenilalaninemie. Comparând datele de la instrumentele de predicție cu fenotipurile observate, s-a constatat că există o diferență la nivelul genotipului p.R408W/p.L48S, analizat mai profund din perspectiva heterogenității sale. Prin acestea concludem că în Republica Moldova prevalează formele clasice de PKU înregistrate în ultimii 2 ani.

**Concluzii:** Metodele de predicție a fenotipului precum AV sau BIOPKU au punctele lor forte. În cazul completării bazelor de date internaționale cu cazuri proprii, va spori calitatea și varietatea programelor de predicție.

**Cuvinte-cheie:** Fenilcetonurie, predicția genetică, genotip, fenotip, BIOPKU.

### РЕЗЮМЕ

#### ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ФЕНОТИПА У ДЕТЕЙ С ФЕНИЛКЕТОНУРИЕЙ ИЗ МОЛДОВЫ НА ОСНОВЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

**Введение:** Фенилкетонурия (ФКУ) - аутосомно рецессивная наследственная болезнь обмена веществ, вызванная нарушением активности печёночного фермента фенилаланин-гидроксилазы. Учитывая тот факт, что нервные клетки самые уязвимые к токсичному эффекту повышенных уровней фенилаланина в крови, наиболее явное проявление данной болезни — это задержка умственного развития. Мутации, отвечающие за фенилкетонурию происходят в гене фенилаланингидроксилазы (PAH). Тип мутации влияет на активность фермента и соответственно на фенотип.

**Цель:** Прогнозирование фенотипа у больных ФКУ из Молдовы на основе генотипирования с помощью прогнозирующих программ.

**Материалы и методы:** В качестве материала были использованы данные 9 молдавских пациентов с ФКУ, диагностированных неонатальным скринингом (>3 мг/дл), в период 2018-2019, с полным выявленным генотипом гена *PAH*. Для предсказания фенотипа был использован метод произвольного значения (AV). Второй метод включает в себя работу с программой *BIOPKU* (*BIOPKU*; <http://www.biopku.org>). Идентификация общих мутаций (*p. R408W*, *p. P281L*, *p. L48S*, *p. R252W*, *p. R158Q*, *p. R261Q*) была осуществлена с помощью ПЦР/ПДРФ, а также выявление других редких мутаций с помощью секвенирования кодирующей части гена *PAH*.

**Результаты:** Используя данные о патологических генотипах, выявленных в период 2018- 2019 были предсказаны фенотипы 9 пациентов с ФКУ. Полученные результаты при использовании системы (AV) показали преобладание классической формы ФКУ в 66,7%, исключение было представлено средними формами ФКУ (33,3%). При использовании *BIOPKU*, было проанализировано 8 из 9 генотипов пациентов с ФКУ. В данном случае, все генотипы были обозначены как классическая форма ФКУ. Учитывая тот факт, что расчетный фенотип генотипа *p.R408W/p.L48S* отличается от такового в наблюдаемых случаях, данная комбинация была изучена подробнее из перспективы неоднородности фенотипов среди разных случаев. Как следствие, можно утвердить что в Молдове зарегистрированы классические формы ФКУ за последние 2 года.

**Заключение:** Системы предсказания фенотипа, такие как метод AV и *BIOPKU*, могут быть полезными в исследовательской деятельности, каждая система, в свою очередь, имеют свои преимущества, пополняя интернациональные базы генетических данных, при этом качество прогнозов фенотипов значительно улучшится.

**Ключевые слова:** Фенилкетонурия, генетический прогноз, генотип, фенотип, *BIOPKU*.

## Introduction

Phenylketonuria (PKU) is an inborn metabolic error, with an autosomal recessive type of inheritance. The biochemical cause of PKU is phenylalanine hydroxylase (PAH) deficiency. The given hepatic enzyme, combined with Tetrahydrobiopterin (BH<sub>4</sub>) cofactor contributes to degradation of phenylalanine (*Phe*) that is one of the essential amino acids. In case of a metabolic error due to a mutation, PAH enzyme is partially inactive or not functional that leads to accumulation of *Phe* blood level in body tissues with a toxic effect on them [1].

The genetic cause of the disease are the mutations in the PAH gene located on chromosome 12q23.2. The activity of phenylalanine hydroxylase directly depends on the mutation type- nonsense mutations, frameshift mutations, splicing mutations, deletions and insertions lead to an inactive enzyme, weather missense mutations lead to a more variable outcome regarding PAH enzymatic activity [2]. In case of poor effectiveness of the enzyme (PAH), the nerve cells in the brain that are the most sensitive to high *Phe* level suffer the most, that leads to brain damage [1]. Also, amongst phenylketonuria manifestations could be mentioned poor pigmentation, growth failure, microcephaly, skin rashes, seizures, and others. There are several types of PKU based on phenotype manifestations and severity of the diagnosis: classic PKU and variant PKU, including moderate PKU and mild PKU, mild hyperphenylalanemia (HPA) or non-PKU HPA, and BH<sub>4</sub>- responsive PKU [3]. BH<sub>4</sub> responsive PKU is a type of PAH deficiency that can be

treated by BH<sub>4</sub> endogenic cofactor that lowers *Phe* level in plasma as an addition to the diet [3].

Prediction of the phenotype based on the genotype may be useful in further studies of the disease and considerably improve the understanding of genotype - phenotype relationship based on biostatistical data. Although prediction programs cannot be used in diagnostics and are not precise enough, they can be improved and applied in research field. Those programs use records of medical cases, analyze them and attribute them values that characterize the severity of the condition, based on the reported cases. In addition, we can obtain supplementary valuable information, such as BH<sub>4</sub> responsiveness in patients with PKU. Thus, we can already use the prediction tools for preventive analysis and correlation.

**Aim:** Evaluation of the expected phenotype in Moldovan PKU patients based on their genotype, according to various prediction methods.

## Materials and methods:

The data of 9 Moldovan PKU patients diagnosed by neonatal screening (>3 mg/dL) during 2018- 2019 with fully- identified genotype of *PAH* gene were used.

### Genotyping Methods

Identification of six common mutations (*p.R408W*, *p. P281L*, *p.L48S*, *p.R252W*, *p.R158Q*, *p.R261Q*) was performed by PCR/RFLP method as described in the previous research by K. Boiciuc [2]. In case a pathological genotype was not identified by the given

method, *PAH* gene exons were sequenced using capillary electrophoresis and chemistry from Applied Biosystems (USA) as described [4].

*Arbitrary Value Method*

For prediction of the patients' phenotype the arbitrary value system was used, accordingly to LL Wang [5]. Based on the residual activity of phenylalanine hydroxylase (*PAH*) in vitro, the mutations were classified in four categories and for each there was attributed an arbitrary value (AV), in dependence with the out coming phenotypes: for the null mutations AV= 1, with unnoticeable in vitro residual activities (<10%); AV= 2 for 10%-30% activity of wild type *PAH*; AV=4 for 30%-70%; AV=8 with residual activities greater than 70%. The

**Results**

Molecular genetic analysis revealed six distinct pathological genotypes in *PAH* gene in nine Moldovan PKU patients that were used for prediction tools to estimate the out coming phenotypes.

*Arbitrary Value Method*

There were analyzed 6 genotypes of 9 Moldovan PKU patients. It can be observed that the majority of the genotypes lead to AV=2, it equals to 66.7% (n=6) of patients with classic PKU identified by the given approach. Therefore, there was a single genotype associated with mild PKU detected in 3 patients with an AV=4, representing 33.3% of all (Tab. 1).

**Table 1. Results from arbitrary value method phenotype prediction on Moldovan PKU patients 2018-2019**

Genotype	Number of patients	AV Total	Phenotype
p.R408W/p.L48S	3	4	Mild PKU
p.R408W/p.P281L	1	1	Classic PKU
IVS7+4A>G/IVS11+7T>C	1	1	Classic PKU
p.P281L/IVS12+1G>A	1	1	Classic PKU
p.R408W/p.R408W	2	1	Classic PKU
p.R408W/IVS12+1G>A	1	1	Classic PKU

phenotype of an individual is expressed as a sum of both mutant alleles' AVs. The total AV is used in prediction of the PKU type: 2 is for classic PKU; 3-4 for moderate PKU; 5-8 for mild PKU and 9-16 for mild HPA [5]. In order to homogenize the results, moderate PKU will be integrated into mild PKU category. Thus, the range for mild PKU will be AV= 3-8.

*BIOPKU Method*

The second prediction system involved *BIOPKU* program (*BIOPKU*; <http://www.biopku.org>). The given software attributes each pathologic mutation Allelic Phenotype Value (APV) that is graded on a scale. Genotypic Phenotype Value (GPV), also called *APVmax*, is the highest APV value from the two alleles. There are three types of PKU differentiated in the following system, based on APV values: 0-2.7 is classic

Considering that the AV depends on residual enzymatic activity of *PAH*, as a consequence most of mutations lead to null activity of the enzyme. Regarding those facts, we can assume that classic PKU considerably predominates in Moldovan patients registered last years, accordingly to arbitrary value method.

*BIOPKU Results*

Using *BIOPKU* program, 5 genotypes from 8 of Moldovan PKU patients were analyzed out of 9, given that there was no data about IVS7+4A>G/IVS11+7T>C genotype due to absence of records related to this particular genotype. The missing genotype makes up 11.11% from the total number. The table 2 indicates that 89.9% (n=8) of processed genotypes in the given study fall within classic PKU. In contrast, there were no cases with mild PKU or mild HPA detected using this prediction method (Table 2).

**Table 2. Results from BIOPKU phenotype prediction system in Moldovan PKU patients.**

Genotype	Number of patients	GPV (APV total)	Phenotype
p.R408W/p.L48S	3	2	Classic PKU
p.R408W/ p.P281L	1	0	Classic PKU
IVS7+4A>G/IVS11+7T>C	1	Absent	Absent
p.P281L/IVS12+1G>A	1	0	Classic PKU
p.R408W/ p.R408W	2	0	Classic PKU
p.R408W/IVS12+1G>A	1	0	Classic PKU

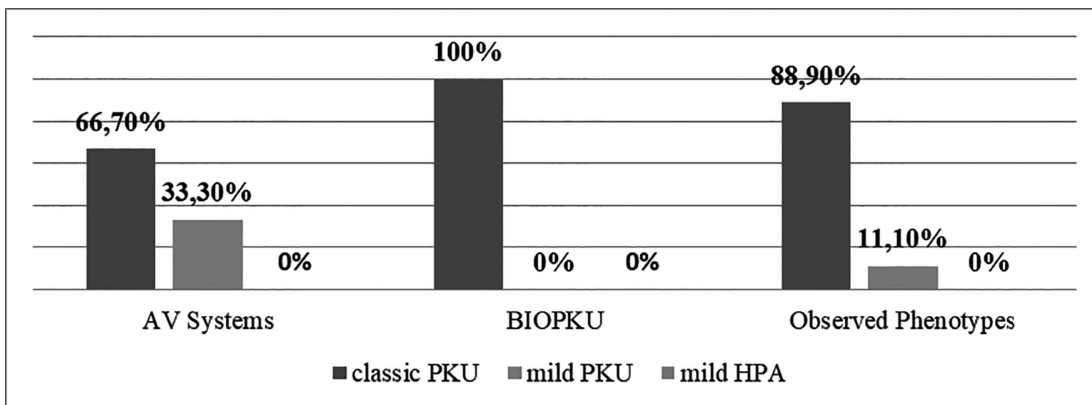
PKU, 2.8-6.6 is mild PKU, and 6.7-10.0 is mild HPA. It is important to mention that there is always overlapping between classical PKU and mild PKU, as well as between mild PKU and mild HPA.

The results show little diversity in phenotypes due to a small number of cases of fully genotyped patients and absence of information about some of the mutations in *BIOPKU* database.

**Discussions**

Based on early diagnosis and continuous treatment with clinical child monitoring and metabolic control we could decide about type of PKU and in our study group all patients were categorized as classic PKU beside that having the

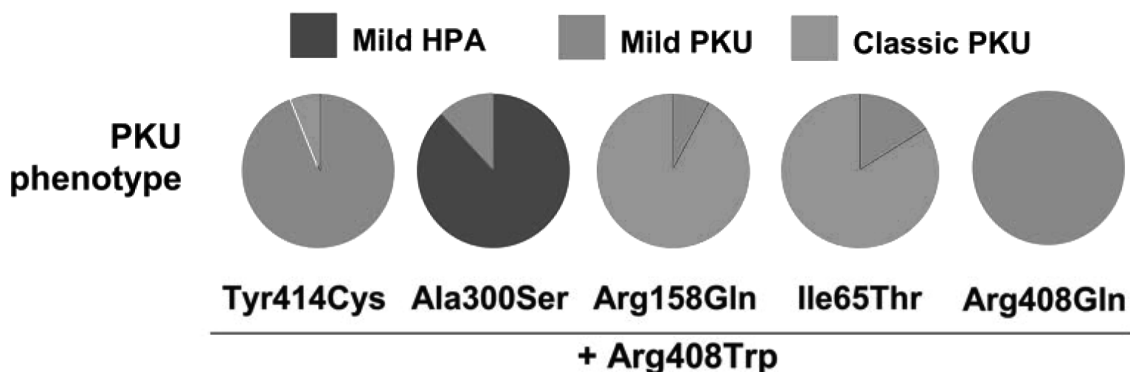
until present, there were registered 7 cases of PKU with the p.R408W/p.L48S genotype. The given genotype was observed to be very heterogeneous in manifestations. For instance, in this there was a patient that was missed out from neonatal screening, diagnosed at 23 years old with a 1293.4



**Fig. 1 Differences between predicted and observed phenotypes in Moldovan PKU patients 2018-2019**

p.R408W/p.L48S genotype which shows a mild evolution. We could mention the fact that classical form of PKU caused by those five different genotypes of PAH gene there were exactly predicted by both AV system and BIOPKU. However, the difference between observed and predicted phenotype was detected in patients with the p.R408W/p.L48S genotype. Due to enzyme activity up to 30%, for L48S mutation and its combination with a null mutation

μmol/L blood Phe level and escaped mental retardation [6],[7]. In addition, there was another patient with the same genotype diagnosed by neonatal screening and early treated with a good metabolic control that led to normal development of the child. On the other hand, in the same group there is a case, of a patient that was late diagnosed, at three years old and had severe mental retardation with a characteristic phenotype, even was tested as BH4-responsive.



**Fig. 2 Variation in Correlation of Genotype and Phenotype Reported by N. Blau 2016**

(p.R408W), AV system predicted a milder phenotype. On the other hand, BIOPKU predicted a classic phenotype on the same genotype, according to its database and prediction algorithms.

In the study group, there were present three patients with the p.R408W/p.L48S genotype. In relation to these cases, there was observed no homogeneity at the phenotype level. Considering that, two patients had classical form of PKU as predicted by BIOPKU tool and one patient with Mild form, accordingly to AV system calculation.

At the same time, it is worth mentioning that from the beginning of the molecular genetic diagnostic of PKU

As we know, the phenotype is predicted by genotype, being established by a correlation between them. However, in the study group there was noticed phenotype variability, caused by the same genotype. The following tendency was not only described in our group, similar cases being reported. One of the most significant review on this phenomenon was made by Prof. N. Blau [8], that analyzed the statistical and analytic power of large mutational databases such as BIOPKU. According to this, there was observed that patients that share a common mutation may have different phenotypes, as long as it is a complex and multifactorial correlation between the genotype and phenotype.



### Conclusions

As prediction methods, both AV system and BIOPKU have advantages. BIOPKU for instance, is more informative because it offers data about BH4 responsiveness of a patient with a certain genotype[3]. This tool has a large database with lots of records of real cases that enhance the accuracy of predictions. The great advantage of the AV system is that if the type of the mutation is known as one causing null activity of PAH, its AV is constant, AV=1. This fact offers more possibilities because even if a new mutation is detected and its type is one of those leading to PAH effectiveness lower than 10%, the AV will be known (AV=1). [5]

The results returned by prediction programs, such as AV system and BIOPKU, do not always correspond with the results from real clinical cases. Thus, the data obtained can be only considered as provisory because the accuracy of predictions is not satisfactory in order to be applied in clinical cases. It is necessary to mention that there are other factors that influence the phenotype and its severity.

This type of research is benefic in the way that international databases such as BIOPKU can be completed with records of Moldovan PKU patients. This helps to improve the quality of phenotype prediction in PKU cases and add new mutations that are characteristic to certain populations. As a result, the database becomes numerous that allows more possibilities and enlarges the range of information that it can offer, based on the genotype.

### Bibliography:

- [1] N. Al Hafid and J. Christodoulou, "Phenylketonuria: a review of current and future treatments," *Transl. Pediatr.*, vol. 4, no. 4, pp. 304–30417, 2015, doi: 10.3978/j.issn.2224-4336.2015.10.07.
- [2] S. V. K., Boiciuc, Ușurelu N., Strătilă M., "Fenilcetonuria în Moldova 2." A V- a Conferinta Zilele Neonatologiei Moldave, Chisinau.
- [3] N. Blau, J. B. Hennermann, U. Langenbeck, and U. Lichter-Konecki, "Diagnosis, classification, and genetics of phenylketonuria and tetrahydrobiopterin (BH4) deficiencies," *Mol. Genet. Metab.*, vol. 104, no. SUPPL., pp. 2–9, 2011, doi: 10.1016/j.ymgme.2011.08.017.
- [4] V. S. K. Boiciuc, N. Ușurelu, *Metode de Diagnostic Clinic si de Laborator în Genetica Medicală*. 2019.
- [5] Z. W. Wang, S. W. Jiang, and B. C. Zhou, "PAH mutation spectrum and correlation with PKU manifestation in north Jiangsu province population," *Kaohsiung J. Med. Sci.*, vol. 34, no. 2, pp. 89–94, 2018, doi: 10.1016/j.kjms.2017.09.006.
- [6] D. Van Vliet *et al.*, "Can untreated PKU patients escape from intellectual disability? A systematic review," pp. 1–6, 2018.
- [7] D. Van Vliet *et al.*, "Untreated PKU Patients without Intellectual Disability: What Do They Teach Us?," no. September, pp. 1–10, 2019.
- [8] N. Blau, "Genetics of Phenylketonuria: Then and Now," *Hum. Mutat.*, vol. 37, no. 6, pp. 508–515, 2016, doi: 10.1002/humu.22980.

© Iulia Coliban\*, Ninel Revenco, Doina Țurcan, Vladimir Egorov,  
Natalia Ușurelu, Victoria Sacară\*

IULIA COLIBAN\*, NINEL REVENCO, DOINA ȚURCAN, VLADIMIR EGOROV,  
NATALIA UȘURELU, VICTORIA SACARĂ\*

## SPINAL MUSCULAR ATROPHY: NEWS AND PERSPECTIVES

*Institute of Mother and Child, Republic of Moldova*

### РЕЗУМАТ

#### АТРОФИЯ МУСКУЛАРĂ СПИНАЛĂ: НОУĂȚИ ȘИ PERSPECTIVE

**Introducere.** Атрофия мускуларă спиналă (SMA) е о боалă neuromusculară прогресивă моштенитă рецесив аутозомал. Боалă е каузатă де мутаții care apar în gena *SMN1* (Survival Motor Neuron) și се consideră că severitatea sa este modulată de gene precum *SMN2*, *NAIP* (Proteina Inhibitoare Neoponală) sau *GTF2H2* (General Transcription Factor III Subunitate 2)

**Material și metode.** Diagnosticul pentru maladia SMA este disponibil prin diferite metode. Diagnosticul genetic molecular este efectuat prin PCR-RFLP, dar mai detaliat și considerat ca fiind standard de aur este tehnica MLPA. Diagnosticul se efectuează la persoanele care prezintă simptome, dar și înainte de apariția lor. Astfel, diagnosticul poate fi pus cât mai curând posibil, de exemplu, prenatal pentru familiile în care s-au născut deja copii cu SMA, pentru nou-născuți (screeningul nou-născutului) și chiar în procesul de planificare familială (screening al purtătorilor). Diagnosticul diferențial al SMA este complicat și necesită luarea în considerare a multor boli cu simptome similare.

**Rezultate.** În baza de date a Laboratorului sunt înregistrați 131 de pacienți diagnosticați cu SMA. Până în 2016, tratamentul pacienților a inclus doar îngrijire curativă îmbunătățind simptomele bolii. După 2016, Food and Drug Administration (FDA) a fost aprobat singurul tratament pentru SMA. În prezent, la nivel mondial, se fac eforturi pentru implementarea screeningului nou-născutului.

**Concluzii.** Odată cu reevaluarea criteriilor necesare pentru screening și aprobarea tratamentului, screeningul pentru această boală devine esențial. Diagnosticul precoce poate îmbunătăți evoluția stării pacienților cu SMA.

**Cuvinte-cheie:** genetică moleculară, simptome, diagnostic, screening, tratament.

### РЕЗЮМЕ

#### СПИНАЛЬНАЯ МЫШЕЧНАЯ АТРОФИЯ: НОВОСТИ И ПЕРСПЕКТИВЫ

**Введение:** Спинальная мышечная атрофия (СМА) является прогрессирующим нервно-мышечным заболеванием с аутосомно-рецессивным типом наследования. Заболевание вызывается мутациями в гене *SMN1* (Survival Motor Neuron) и его тяжесть модулируется такими генами, как *SMN2*, *NAIP* (белок, ингибирующий апоптоз нейронов) или *GTF2H2* (субъединица 2H общего транскрипционного фактора III).

**Материалы и методы:** Диагностика проводится различными методами. Молекулярно-генетическая диагностика проводится методом ПЦР-РФЛП, но золотым стандартом является метод MLPA. Диагностика может проводиться у людей, у которых уже есть симптомы, но и до их появления. Диагноз СМА может быть поставлен пренатально в семьях, где уже имеется случаи СМА и постнатально у новорожденных (скрининг новорожденных) и у больных, а также в процессе планирования семьи (скрининг носителей). Дифференциальная диагностика СМА сложна и требует рассмотрения многих заболеваний с похожими симптомами.

**Результаты:** В базе данных лаборатории зарегистрировано 131 пациент с диагнозом СМА. До 2016 года лечение пациентов включало только лечебную помощь для улучшения симптомов заболевания. С 2016 года Управление по контролю за продуктами и лекарствами (FDA) одобрило единственное лечение СМА (Spinraza). В настоящее время во всем мире предпринимаются усилия по внедрению скрининга новорожденных на СМА.

**Заключение:** После переоценки необходимых критериев скрининга и утверждения лечения скрининг на это заболевание становится необходимым. Ранняя диагностика может улучшить состояние пациентов с СМА.

**Ключевые слова:** молекулярная генетика, симптомы, диагностика, скрининг, лечение.

**Introduction.**

**Spinal muscular atrophy (SMA)** is a progressive neuromuscular disease with autosomal recessive transmission, characterized by muscle weakness and atrophy caused by degeneration of motor neurons in the spinal cord and brainstem nuclei [15]. This hereditary condition has an incidence of about 1 in 8,43±0,15:100 000 of R. Moldova population [24]. In over 95% of cases, this disease is caused by abnormalities of the *SMN1* gene (Survival Motor Neuron 1), which results in a major deficiency of the SMN1 protein.

**Cause of SMA.** In 1995, the gene involved in the onset of spinal muscular atrophy was also described. It encodes a specific neuronal protein, the neuronal

survival protein (SMN). The disease is caused by mutations that occur in the *SMN1* (Survival Motor Neuron) gene, and its severity is thought to be modulated by genes such as *SMN2*, *NAIP* (Neuronal Apoptosis Inhibitory Protein) or *GTF2H2* (General Transcription Factor IIH Subunit 2). Expression of the *SMN1* gene produces full-length SMN protein, in contrast, *SMN2* expression results in a truncated version of the polypeptide that lacks 16 amino acids at the carboxy-terminal end [20].

People with SMA are either homozygous for the deletion of exon 7 from *SMN1* ( $\Delta 7$  *SMN1*), or heterozygous compounds for  $\Delta 7$  *SMN1* and an intragenic mutation of *SMN1*. The deletion of the telomeric copy of the *SMN*

**Table 1. Disorders to Consider in the Differential Diagnosis of Spinal Muscular Atrophy (SMA)[14]**

Age of Onset	Disorder	Gene(s) or Region	MOI	Clinical Features of Differential Diagnosis Disorder	
				Overlapping w/SMA	Distinguishing from SMA
Congenital to <6 months	X-linked infantile spinal	UBA1	XL	Hypotonia, weakness, areflexia	Multiple congenital contractures, intrauterine fractures
	SMARD1 1 (OMIM 604320)	IGHMBP2	AR	Weakness, respiratory failure, hypo- or areflexia	Distal predominant weakness, diaphragmatic paralysis
	Prader-Willi syndrome	15q11.2-q13	Many factors	Hypotonia, feeding difficulties	Poor respiratory effort is rare.
	Myotonic dystrophy type 1	DMPK	AD	Hypotonia, muscle weakness	Marked facial weakness
	Congenital muscular dystrophy	Many genes	AR AD	Hypotonia, muscle weakness	CNS, eye involvement, possible increased tone
	Zellweger spectrum disorder	PEX family of genes	AR	Hypotonia	Hepatosplenomegaly, CNS
	Congenital myasthenic syndromes	CHAT, CHRNE COLQ, DOK7 GFPT1,RAPSN	AR AD	Hypotonia	Ophthalmoplegia, ptosis, episodic respiratory failure
	Pompe disease	GAA	AR	Hypotonia	Cardiomegaly
	Other: congenital myopathies, 4 metabolic/mitochondrial myopathies, 5 peripheral neuropathies 6				
>6 months	Botulism	NA	NA	Proximal muscle weakness, decreased reflexes	Prominent cranial nerve palsies, acute onset
Later childhood	Guillain-Barré syndrome	NA	NA	Muscle weakness	Subacute onset, sensory involvement
	Duchenne muscular dystrophy	DMD	XL	Muscle weakness, motor regression	Serum creatine kinase concentration 10-20x > normal
	Hexosami-nidase A deficiency	HEXA	AR	Lower motor neuron disease	Slow progression, progressive dystonia, spinocerebellar degeneration, cognitive/psychiatric involvement
	Fazio-Londe syndrome	SLC52A2 SLC52A3	AR	Progressive bulbar palsy	Limited to lower cranial nerves; progresses to death in 1-5 years
	Monomelic amyotrophy (OMIM 602440)	Unknown		Muscle weakness	Predominantly cervical; tongue may be affected (rare); other cranial nerves spared
	Other: peripheral neuropathies, 6 muscular dystrophies 7				
Adult-hood	Kennedy disease	AR	XL	Proximal muscle weakness, muscle	Gradually progressive; gynecomastia, testicular
	Amyotrophic lateral sclerosis	Many genes 8	AD AR XL	May begin w/pure lower motor neuron signs	Progressive neurodegeneration; involves both upper & lower motor neurons

(*SMN1*) is directly involved in SMA because the absence of exon 7 or exon 7 and 8 is detectable in more than 95% of the affected persons regardless of the clinical manifestation. In patients with mutations, approximately 70-80% of the SMN gene product is in the form of the truncated protein [21].

Also, in 1995, the *NAIP* gene that encodes the *NAIP* (apoptosis neuronal inhibitory protein) protein was identified. The deletion of this gene, which is close to the SMN gene, is associated with SMA, a fact proven by the presence of homozygous mutations of the *NAIP* gene in 45% of patients with SMA type I and in 18% of patients with SMA type II or III [8].

*GTF2H2* (General Transcription Factor IIIH Subunit 2) is a Protein Coding gene. Diseases associated with *GTF2H2* include Spinal Muscular Atrophy and Cockayne Syndrome.

#### **Types of SMA.**

Genetically factors that influence the SMA phenotype are the number of *SMN2* gene copies and a deletion in the *NAIP* gene. A higher number of *SMN2* copies makes the clinical symptoms more benign, and the *NAIP* gene deletion is associated with a more severe phenotype. Clinically (*Table 1*), depending on the age of onset, life expectancy, distribution of muscular hypotonia and stage motor development of patients, several phenotypes of SMA have been described of which the most important are: acute infant (type SMA) I or Werdnig-Hoffman's disease), chronic infant (SMA type II), chronic juvenile (SMA type III or Kugelberg-Welander disease) and adult form (SMA type IV) [22]. Alongside these are described: prenatal form (SMA 0), congenital axonal neuropathy and spinal muscular atrophy associated with congenital arthroplasty [14].

AD = autosomal dominant; AR = autosomal recessive; MOI = mode of inheritance; SMARD = spinal muscular atrophy with respiratory distress; XL = X-linked

**Treatment.** Until 2016, treatment of patients included only curative care improving the symptoms of the disease. However, since 2016 new therapies have advanced in clinical trials for diagnosed patients and the Food and Drug Administration (FDA) has approved the only treatment for SMA which is called Spinraza (Nusinersen) that later in 2019 a second treatment called Zolgensma will be approved [5].

*Spinraza Nusinersen* is an antisense oligonucleotide that binds to the pre-mRNA of survival motor neuron 2 (*SMN2*). It is used for the management of spinal muscular atrophy for a full range of patients with spinal muscular atrophy (from disease with infant onset until later onset) [11].

*Zolgensma (AveXis, Inc.)* designed to provide a normal copy of the gene that encodes SMN protein is an adeno-associated virus (AAV) based on vector gene therapy indicated for the treatment of patients younger than 2 years of age with spinal muscular atrophy (SMA) caused by biallelic mutations in the motor neuron 1 survival gene (*SMN1*), type I SMA.

According to the recent reevaluation of the Wilson-Jungner criteria (2008), SMA may be included in screening studies [4].

Thus, starting in 2018, pilot studies have been launched in some European countries (Belgium, England, Germany), Taiwan, Russia, America, as well as Australia, in some cases with the implementation of neonatal screening and heterozygous carriers atrophy to prevent the loss of motor neurons, just before the onset of symptoms. It should allow maximum benefit for the people who will develop SMA.

#### **Materials and Methods.**

**Molecular genetics diagnosis.** There is a number of methods available to screen DNA for *SMN1* deletion or *SMN2* copy number. The standard molecular diagnosis of SMA is based on a PCR-RFLP test [6], able to detect homozygous *SMN1* loss [2; 9].

At present, in Moldova, the genetic molecular diagnosis is performed in the Laboratory of Human Molecular Genetics (LGMU) of the IMSP of the Mother and Child Institute. This involves the study of ADN extracted from biological samples (blood on anticoagulant) that were collected from the patients who were consulted. Thus, the presence or absence of exons 7 and 8 in the *SMN1/SMN2* genes is performed by PCR-RFLP method [24].

For families at-risk (where the birth of a child with SMA has already been registered) is available prenatal diagnosis.

Now, in our Laboratory, the optimization of the genetic molecular diagnosis method through qPCR is being considered. The parameterization and design of the test to identify the deletions associated with the SMA will include the establishment of optimal conditions with the elaboration of the working algorithm [18]. This test will be possible to use in the NBS diagnosis.

#### **Results and Discussions.**

In the database of laboratory 131 patients diagnosed with SMA are registered. Respectively for Nr = 40 (30.5%) deletion of only exon 7 *SMN1*, for Nr = 23 (17.5%) deletion of only exon 8 *SMN1* and for Nr = 68 (52%) deletion was registered for both exons.

Is very important to quantify the number of copies of genes *SMN1* and *SMN2*. PCR-RFLP test does not detect heterozygous *SMN1* loss, and cannot be used for identifying healthy carriers, which can be checked by quantitative analysis of *SMN1* copy number.

Considering that, is required other methods, like Quantitative PCR and MLPA for diagnosis of SMA. Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) is a modern quantitative molecular method. MLPA [19] is considered the gold standard for diagnosis of SMA. It improves diagnostics by simultaneously identifying several target sequences in the *SMN1* gene and in nearby genes, the copy number of both *SMN1* and *SMN2* genes. Thus, through MLPA both homozygous and heterozygous *SMN1* deletions

or conversions to *SMN2*, can be detected, allowing the diagnosis of affected patients or healthy carriers.

Quantitative PCR (qPCR), also known as real-time PCR, has become a powerful tool for the amplification, identification, and quantification of nucleic acids. Its ability to quantitatively and specifically detect genes has been invaluable for both research and diagnostic applications [17].

Disease pathogenesis all type of disease is influenced by *NAIP* and *GTF2H2* gene deletion. High frequency of *NAIP* deletion in SMA type I, is associated to be a modifier factor in the severity of the disease, that is why these genes need to be added to the diagnostic routine [6].

The new test based on qPCR that is elaborated in our institution will facilitate the identification of the causes of the disease onset and the establishment of heterozygous carriers in the population.

With the advent of effective pharmacological treatment for SMA, there is a worldwide discussion about strategies to identify patients as early as possible. This is especially so for children with an expected severe form of SMA who in our view should be treated immediately. This fact is achievable only with the implementation of neonatal screening (NBS) for SMA. Since the lack of *SMN* leads to an irreversible loss of motor neurons, the timing of treatment before the onset of symptoms is crucial for a good outcome. In patients with SMA type 1, about 95% of motor neurons are lost within the first 6 months of life. At present, only two of the patients for which a molecular diagnosis has been made confirming the deletion of exons 7 and 8 *SMN1* benefit from Spinraza treatment in Romania. They addressed for diagnosis at the end of 2019, after confirming the diagnosis within the LGMU, they counted the number of copies of the *SMN2* gene by the MLPA method in another institution. Quantification of the number of copies of *SMN2* is essential for treatment with the use of Spinraza. Consequently, there is a need for newborn screening, similar to other treatable inborn diseases. NBS is possible at a low cost and with a high predictive value [1], is available by molecular-genetic real-time PCR testing of DBS (dried blood spot), specific for the homozygous deletion of exon 7, *SMN1* and by MLPA molecular-genetic testing. NBS assumed to identify 95% of SMA cases, but this method will omit approx. 5% of SMA cases that do not have the homozygous deletion of exon 7, *SMN1*. To reach a sensitivity of 99.9%, it is necessary: testing and monitoring for carriers [3], elaboration carrying out level 2 test to exclude a second pathogenic mutation.

**Conclusions.** Given the progressive nature of motor neuron loss, early intervention to prevent motor neuron loss, even before the onset of symptoms, should allow maximum benefit for people who will develop SMA. Results of Germany NBS study pilot [23] show that newborn screening for SMA, resulting in pre-symptomatic treatment, can prevent the disease and partially rescue motor neuron function. Spinal muscular

atrophy can cause tremendous suffering – physical, financial, and emotional – to the patient and the family of the affected individual. Testing of individuals at high risk, such as those with a family history of SMA, is prudent [13]. This fact will subsequently provide informational, social-economic and descriptive population support for at-risk families and those adopting a family planning process.

#### Bibliography:

1. Boardman FK, Sadler C, Young PJ. Newborn genetic screening for spinal muscular atrophy in the UK: The views of the general population. *Mol Genet Genomic Med.* 2018;6(1):99-108. doi:10.1002/mgg3.353.
2. Cao YY, Zhang WH, Qu YJ, et al. Diagnosis of spinal muscular atrophy: A simple method for quantifying the relative amount of survival motor neuron gene 1/2 using sanger DNA sequencing. *Chin Med J (Engl).* 2018;131(24):2921-2929. doi:10.4103/0366-6999.247198.
3. Feldkötter M, Schwarzer V, Wirth R, Wienker TF, Wirth B. Quantitative analyses of *SMN1* and *SMN2* based on real-time lightCycler PCR: fast and highly reliable carrier testing and prediction of severity of spinal muscular atrophy. *Am J Hum Genet.* 2002;70(2):358-368. doi:10.1086/338627.
4. Jose BY, Lopes M. Zolgensma Could Be More Cost-effective than Spinraza with One- Million. 2019:1-11.
5. Levin AA. Treating disease at the RNA level with oligonucleotides. *N Engl J Med.* 2019;380(1):57-70. doi:10.1056/NEJMra1705346.
6. Liang Y, Chen X, Yu Z, et al. Deletion analysis of *SMN1* and *NAIP* genes in Southern Chinese children with spinal muscular atrophy. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2009;10(1):29-34. doi:10.1631/jzus.B0820125.
7. Liu Z, Zhang P, He X, et al. New multiplex real-time PCR approach to detect gene mutations for spinal muscular atrophy. *BMC Neurol.* 2016;16(1):141. doi:10.1186/s12883-016-0651-y.
8. Medrano S, Monges S, Gravina LP, et al. Genotype-Phenotype correlation of *SMN* locus genes in Spinal Muscular Atrophy children from Argentina. *Eur J Paediatr Neurol.* 2016. doi:10.1016/j.ejpn.2016.07.017.
9. Mercuri E, Finkel RS, Muntoni F, et al. Diagnosis and management of spinal muscular atrophy: Part 1: Recommendations for diagnosis, rehabilitation, orthopedic and nutritional care. *Neuromuscul Disord.* 2018;28(2):103-115. doi:10.1016/j.nmd.2017.11.005.
10. Moultrie RR, Kish-Doto J, Peay H, Lewis MA. A Review on Spinal Muscular Atrophy: Awareness, Knowledge, and Attitudes. *J Genet Couns.* 2016;25(5):892-900. doi:10.1007/s10897-016-9955-8.
11. Pacione M, Siskind CE, Day JW, Tabor HK. Perspectives on spinraza (Nusinersen) treatment study: Views of individuals and parents of children diagnosed with spinal muscular atrophy. *J Neuromuscul Dis.* 2019;6(1):119-131. doi:10.3233/JND-180330.

12. Passon N, Pozzo F, Molinis C, et al. A simple multiplex real-time PCR methodology for the SMN1 gene copy number quantification. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2009;13(1):37-42. doi:10.1089/gtmb.2008.0084.
13. Prior TW. Perspectives and diagnostic considerations in spinal muscular atrophy. *Genet Med*. 2010;12(3):145-152. doi:10.1097/GIM.0b013e3181c5e713.
14. Prior TW, Finanger E. Spinal Muscular Atrophy Summary GeneReview Scope Suggestive Findings. *Gene Rev*. 2016:1-25.
15. Prior TW, Leach ME, Finanger E. Spinal Muscular Atrophy Summary GeneReview Scope. 2020:1-30.
16. Professor A, Reza Kazemi Nezhad S, Mosavi F, Akbar Momen A, Galehdari H, Mohamadian G. SMN1 and NAIP genes deletions in different types of spinal muscular atrophy in Khuzestan province, Iran. *Orig Res Med J Islam Repub Iran*. 2011;25(4):216-221.
17. Radoni?? A, Thulke S, Mackay IM, Landt O, Siegert W, Nitsche A. Guideline to reference gene selection for quantitative real-time PCR. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004;313(4):856-862. doi:10.1016/j.bbrc.2003.11.177.
18. Rekik I, Boukhris A, Ketata S, et al. Deletion analysis of SMN and NAIP genes in Tunisian patients with spinal muscular atrophy. *Ann Indian Acad Neurol*. 2013;16(1):57-61. doi:10.4103/0972-2327.107704.
19. Schwartz M, Dunø M. Multiplex ligation-dependent probe amplification is superior for detecting deletions / duplications in Duchenne muscular dystrophy. *Clin Genet* 2004. 2004;67(13):189-191. doi:10.1111/j.1399-0004.2004.00382.x.
20. Shababi M, Lorson CL, Rudnik-Schöneborn SS. Spinal muscular atrophy: A motor neuron disorder or a multi-organ disease? *J Anat*. 2014;224(1):15-28. doi:10.1111/joa.12083.
21. Singh RN, Howell MD, Ottesen EW, Singh NN. Diverse role of survival motor neuron protein. *Biochim Biophys Acta - Gene Regul Mech*. 2017;1860(3):299-315. doi:10.1016/j.bbagr.2016.12.008.
22. Takeuchi F, Komaki H, Yamagata Z, et al. A comparative study of care practices for young boys with Duchenne muscular dystrophy between Japan and European countries: Implications of early diagnosis. *Neuromuscul Disord*. 2017;27(10):894-904. doi:10.1016/j.nmd.2017.06.557.
23. Vill K, Kölbel H, Schwartz O, et al. One year of newborn screening for SMA – Results of a German pilot project. *J Neuromuscul Dis*. 2019;6(4):503-515. doi:10.3233/JND-190428.
24. V. Sacară, “Particularitățile molecular-genetice ale patologiilor neuromusculare frecvent întâlnite în Republica Moldova” *Autoreferat*, 2019; pp 10.

DIANA HOVANSCAIA, A.SERBENCO, ST. GROPPA

## COMPLICAȚIILE OBSTETRICALE LA GRAVIDELE CU EPILEPSIE

*Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*

### SUMMARY

#### OBSTETRICAL COMPLICATIONS IN GRAVIDES WITH EPILEPSY

*About 2/3 of women with epilepsy remain stable during pregnancy and the vast majority (about 90-96%) have normal pregnancies and births with perfectly healthy children. However, pregnancy in this group of women may be associated with a higher risk of maternal and fetal complications than in the general population, antepartum and post-partum vaginal bleeding, preterm labor, preterm birth, spontaneous abortion, cesarean delivery, placental abruption, polycystic ovarian syndrome and sudden maternal death in order to reduce risk it is necessary to use a clinical protocol for the surveillance of women with active epilepsy preconception and during pregnancy.*

### РЕЗЮМЕ

#### АКУШЕСКИЕ ОСЛОЖНЕНИЯ У БЕРЕМЕННЫХ С ЭПИЛЕПСИЕЙ

У примерно 2/3 беременных женщин, страдающих эпилепсией, течение болезни остается стабильным во время беременности и у большинства (около 90-96%) беременность и роды протекают нормально с рождением абсолютно здоровых детей. Тем не менее, течение беременности у этих женщин сопровождается повышенным риском развития осложнений со стороны матери и плода в сравнении с общей популяцией. Самыми значимыми осложнениями у беременных с эпилепсией являются учащение конвульсий, артериальная гипертензия беременных, преэклампсия, эклампсия, дородовое и послеродовое кровотечение, преждевременные роды, спонтанный аборт, роды путем кесарева сечения, отслойка плаценты, синдром поликистозных яичников и внезапная материнская смерть. Для снижения этих рисков необходима разработка и использование протокола по активной предродовой подготовке и ведению во время беременности женщин, страдающих эпилепсией.

**Ключевые слова:** эпилепсия, беременность, роды, конвульсии, эпилептический статус, противоэпилептические препараты, материнские осложнения, осложнения плода.

**Introducere.** Epilepsia este a doua cea mai frecventă maladie neuropsihică prevalentă, cronică, severă și de diverse etiologii, caracterizată printr-o predispoziție constantă la generarea de convulsii și consecințele lor neurobiologice, cognitive, psihologice și sociale. Afecțiunea se manifestă prin una sau mai multe crize recurente, spontane și imprevizibile, care rezultă din activitatea neuronală anormală, excesivă și sincronă în creier [1, 2, 3]. Epilepsia este cea mai gravă afecțiune neurologică la gravide, pentru care tratamentul administrat uzual trebuie menținut și în timpul sarcinii [3, 4].

Studiile existente privind epilepsia în sarcină se concentrează pe evaluarea rezultatelor fetale și în perioada de copilărie, determinate de expunerea in utero la medicamente antiepileptice (MAE), sau pe severitatea convulsiilor materne. Mai puțin aprofundat sunt studiate alte rezultate importante și clinic relevante, cum ar fi controlul convulsiilor și complicațiile obstetricale în sarcină [5]. Mai mult, factorii de risc pentru rezultatele obstetricale

nefavorabile la gravidele cu epilepsie rămân subestimați, insuficient studiate și înțelese. Au fost determinate interacțiuni complexe între mamă, făt și epilepsie, precum și modificări în homeostazia maternă și nivelurile de steroizi sexuali. Există informații despre riscurile materno-fetale și utilizarea MAE [6], rolul stresului oxidativ [7] și al substanței P [8] în epileptogeneză și îmbătrânirea accelerată a placentei. Studiul acestor probleme și, în primul rând, al riscului legat de administrarea MAE, va oferi informații actuale cu privire la percepția și abordarea managementului gravidelor cu epilepsie și va elucida problemele pertinente pentru studiile ulterioare [1, 6, 7].

#### **Definiția contemporană și epidemiologia epilepsiei.**

Definițiile precedente ale epilepsiei au fost create printr-un document al ILAE (Liga Internațională Împotriva Epilepsiei) în 2005, definiții conceptuale (teoretice) și insuficient detaliate pentru a putea fi folosite în practica clinică în toate cazurile. Definiția nouă a epilepsiei

include oricare dintre următoarele condiții: 1) cel puțin două crize neprovocate (sau reflexe) ce se petrec aparte într-un interval de timp >24 ore; 2) o criză neprovocată (sau reflexă) și o probabilitate de crize ulterioare similare riscului general de recurență (cel puțin 60%) după două crize neprovocate care se petrec în următorii 10 ani; 3) diagnosticul unui sindrom epileptic [9, 10].

Epilepsia afectează aproximativ 1% din populația globală (circa 65 milioane de persoane)[11], 0,5-1,3% dintre femeile de vârstă fertilă [12] și 0,3-0,5% dintre gravide (1 caz la 200 de sarcini)[13, 14, 15]. Incidența și prevalența epilepsiei în Republica Moldova constituie 19 cazuri și 16 cazuri la 100.000 locuitori, respectiv [11].

Actualmente, se observă o majorare multiplă a numărului de sarcini și nașteri la femeile cu epilepsie, fapt determinat de reducerea semnificativă a stigmatizării pacientelor, creșterea ratei de remisiuni medicamentoase, îmbunătățirea rezultatelor obstetricale și perinatale [28]. Deși circa 90-96% gravide cu epilepsie au sarcini și nașteri normale cu copii perfect sănătoși [9, 16], conduita sarcinii și nașterii la acest grup de paciente rămâne o problemă medicală foarte complicată. Crizele necontrolate și agravarea crizelor în sarcină, expunerea preconcepțională și în timpul sarcinii la MAE frecvent influențează negativ evoluția sarcinii și a nașterii, dezvoltarea intrauterină a fătului cu creșterea riscului de complicații materne și fetale, ale nou-născutului și copilului de vârstă fragedă [12, 13, 17, 18].

**Scopul** acestei lucrări constă în elucidarea efectului epilepsiei materne asupra evoluției și rezultatului sarcinii pentru elaborarea unei strategii contemporane de conduită și tratament al gravidelor cu epilepsie.

Pentru realizarea scopului, au fost evaluate două concepții: acțiunea sarcinii asupra evoluției epilepsiei materne și influența epilepsiei materne asupra evoluției și rezultatului sarcinii.

#### **Efectul sarcinii asupra evoluției epilepsiei materne.**

Crizele convulsive epileptice (CCE) generalizate necontrolate reprezintă un pericol grav pentru viața și sănătatea mamei și a fătului. În literatura de specialitate există date contradictorii cu privire la dinamică CCE în timpul sarcinii. Conform rezultatelor unor studii, sarcina, în general, nu modifică frecvența și severitatea convulsiilor la femeile cu epilepsie [1, 2, 3, 6, 13, 16, 18, 19]. CCE la gravide apar în 79,2% din cazurile asociate cu lipsa acestora înainte de sarcină mai puțin de 1 an și scad progresiv concomitent cu perioadele mai lungi de epilepsie „inactivă”: 23% la femeile cu 1 an, 20,5% – cu 2 ani, 19% – cu 3 ani, 17,5% – cu 4 ani și 17,7% – cu 5 sau mai mulți ani de lipsă a CCE [20].

Un studiu de cohortă retrospectiv recent a fost realizat pe 101 sarcini la 55 de femei cu epilepsie cu vârsta medie de 30,7±9,7 ani și durata medie a maladiei de 14,5±10,8 ani. Peste 3/5 (61,7%) dintre femei au prezentat cel puțin o criză în timpul sarcinii, în timp ce la 38,3% nu au fost

observate convulsii epileptice. S-a constatat o creștere a frecvenței convulsiilor la 25,9%, o scădere – la 30,9% și nicio modificare a frecvenței convulsiilor – la 43,2% din sarcini [21, 22].

Într-un lot de 179 de gravide cu epilepsie, frecvența convulsiilor în timpul sarcinii a fost neschimbată sau modificarea a fost favorabilă în majoritatea cazurilor (83%). Circa 56% dintre gravide nu prezentau convulsii în timpul sarcinii sau frecvența acestora a rămas similară cu cea de până la sarcină, 27% – au constatat o schimbare favorabilă și 18% – o schimbare defavorabilă (la 13% gravide au apărut convulsii în timpul sarcinii și la 5% s-a înregistrat o creștere a frecvenței convulsiilor, comparativ cu anul precedent sarcinii)[23].

Femeile cu epilepsie „inactivă” au un risc de 30% de apariție a CCE în sarcină [20]. Dacă pacienta nu a prezentat CCE timp de 9-12 luni până la sarcină (epilepsie „inactivă”), este foarte probabil (80-92%) să continue să rămână fără acestea și în timpul sarcinii [1, 2, 18, 19]. Acest fapt sugerează că, în general, schimbările fiziologice ce au loc în timpul sarcinii nu afectează pragul convulsiilor [19]. Epilepsia „activă” pe parcursul anului de până la sarcină crește riscul de convulsii intrapartum și post-partum [24].

Conform datelor altor autori, la majoritatea gravidelor cu epilepsie nu se va modifica frecvența CCE, circa 1/3 din femei vor constata o creștere, 10-20% vor avea o scădere, iar un număr mic de femei vor avea 1-2 crize în timpul sarcinii și nici o criză în orice alt moment al vieții [17].

Așadar, sarcina nu modifică frecvența și severitatea convulsiilor la femeile cu epilepsie, deși ratele variază în funcție de studii: în circa 60-64% (de la 54% până la 80%) cazuri frecvența convulsiilor este similară cu cea de până la sarcină, în 15-17% (de la 14% până la 37%) cazuri este constatată o creștere și în 15-16% (de la 3% până la 24%) cazuri – o scădere a frecvenței și severității crizelor [1, 2, 3, 6, 13, 16, 18, 19].

**Statusul epileptic** este o urgență neurologică și medicală majoră, cu o incidență de 1-2% la gravidele cu epilepsie [6], indicator comparabil cu prevalența anuală de 1,6% (de la 0% până la 1,8%) în populația generală cu epilepsie [1, 2]. La gravidele cu epilepsie refractară la tratamentul medicamentos, incidența acestei complicații severe crește până la 8,5% [14].

**Evoluția epilepsiei în timpul sarcinii** poate fi influențată de factorii care modifică concentrația plasmatică a medicamentelor antiepileptice sau excitabilitatea neuronală și, în primul rând, de perturbările endocrine și electrolitice [16].

Nivelurile ridicate ale hormonilor sarcinii induc metabolismul MAE, contribuind la diminuarea concentrațiilor circulante ale acestor remedii. Astfel se explică riscul crescut de convulsii la gravidele cu epilepsie care administrează MAE în timpul sarcinii. Estrogenii, posedând proprietăți epileptogene, pot crea noi focare corticale de convulsii, activa focarele corticale preexistente, crește se-



veritatea crizelor, scădea pragul convulsiilor și crește numărul de sinapse excitatorii de pe hipocamp [4, 6].

Diminuarea concentrației plasmatică a MAE poate fi și rezultatul noncompliancei pacientei, al vomiei, modificărilor fiziologice din timpul sarcinii, reducerii legării MAE de proteinele plasmatică, creșterii ratei de clearance și de metabolizare a MAE [16].

Scăderea nivelului mai multor electroliți serici în timpul sarcinii, în primul rând a nivelului de sodiu și magneziu, pot dereglă stabilitatea neuronală cu depolarizarea membranei, scăderea pragului de excitabilitate și predispoziția la convulsii [16].

Așadar, creșterea excitabilității neuronale și reducerea concentrației plasmatică a MAE (creșterea volumului sangvin circulant, a fluxului sangvin renal, a filtrării glomerulare și a activității enzimelor hepatice, precum și reducerea nivelului de proteine plasmatică) [16] influențează farmacocinetica, absorbția, metabolismul, excreția și hemodiluția MAE, care, la rândul lor, pot influența evoluția epilepsiei la acest contingent de femei [6].

**Efectul epilepsiei materne asupra evoluției și rezultatului sarcinii.** Datele literaturii din domeniu privind riscul complicațiilor obstetricale la femeile cu epilepsie sunt controversate. Opinia savanților este că există o creștere mică, dar semnificativă a rezultatelor adverse ale sarcinii la femeile cu epilepsie [12, 16, 28]. Comparativ cu populația generală, riscul este dublu pentru naștere prematură, hemoragie vaginală, preeclampsie, abrupție placentară și naștere prin OC [19]. Unele dintre aceste complicații sunt rezultatul direct al convulsiilor, în timp ce altele pot fi o combinație între efectele MAE și convulsii [17].

CCE în timpul sarcinii prezintă riscuri de complicații obstetricale și pentru fătul în curs de dezvoltare, deși nu există un consens clar în literatura de specialitate privind identificarea acestor riscuri [13, 23]. Epilepsia în sine și convulsiile necontrolate în timpul sarcinii au fost asociate cu apariția efectelor adverse obstetricale: pierdere fetală, hipoxie fetală și tulburări de neurodezvoltare. Femeile cu epilepsie refractară au un risc substanțial de deces, de creștere a frecvenței convulsiilor, a complicațiilor obstetricale și neurologice în timpul sarcinii [14].

Un studiu de cohortă retrospectiv recent, realizat pe 148 de sarcini, a constatat că ratele de avort spontan (2,7% vs. 0,4%;  $p=0,009$ ), naștere prematură (18,1% vs. 11,3%;  $p=0,022$ ), greutate mică la naștere (19,4% vs. 12,4%;  $p=0,026$ ) și naștere prin OC (23,6% vs. 15,5%;  $p=0,017$ ) au fost ușor, dar semnificativ, mai mari la gravidele cu epilepsie, comparativ cu gravidele practic sănătoase cu evoluție fiziologică a sarcinii. Riscul relativ în lotul de studiu a constituit, respectiv, 6,6, 1,6, 1,6 și 1,5. Autorii au concluzionat că sarcinile la femeile cu epilepsie, chiar și în cazurile îngrijirii multidisciplinare și în lipsa altor factori de risc, sunt semnificativ statistic asociate cu o rată mai mare de rezultate adverse [15].

Evaluarea unui lot din 101 sarcini la 55 de femei cu epi-

lepsie cu vârsta medie de 30,7±9,7 ani și durată medie a maladiei de 14,5±10,8 ani a remarcat naștere normală per vias naturalis în 49,4% cazuri, naștere prin OC – în 50,6% cazuri, avort spontan – în 19,8% cazuri, naștere cu făt viu la termen – în 72,3% cazuri, naștere prematură (până la 37 săptămâni de gestație) – în 4,9% cazuri, naștere cu copil mort – în 1,2% cazuri și deces prematur fetal – în 0,9% cazuri [21, 22].

Rezultatele altor studii retrospective au evidențiat un risc mai mare de preeclampsie severă, hemoragii vaginale la termene mici de sarcină și naștere prin OC la gravidele cu epilepsie care au urmat tratament cu MAE, comparativ cu gravidele practic sănătoase cu evoluție fiziologică a sarcinii. La gravidele cu epilepsie, dar care nu au urmat tratament antiepileptic, s-a atestat un risc mai mare de naștere prematură și de aplicare a forcepsului obstetrical [25, 26].

Savanții din Federația Rusă au evidențiat următoarele cele mai frecvente cauze de spitalizare în cazul pacientelor cu epilepsie: insuficiența fetoplacentară (13,2%) și iminența de avort spontan (27,9%). Naștere spontană urgentă s-a constatat la 80,5-83,7% și naștere prin OC – la 14-17% gravide cu epilepsie [27, 28].

Există mai multe rapoarte privind pierderea fetală, în funcție de populație și de registrele de sarcină, care arată o variație largă – de la 3,8% în Registrul Australian al MAE în Sarcină până la 9% în Registrul European al MAE în Sarcină. Pe lângă diferențele etnice și socio-economice, tipul epilepsiei și al convulsiilor, alte complicații materne, eterogenitatea în criteriile de includere în studiu și populația de referință pot avea un impact asupra acestei variabilități [29].

Registrul Kerala al Epilepsiei și Sarcinii, realizat în India, a constatat o rată de 2,8 ori mai mare de avort spontan la gravidele cu epilepsie care foloseau MAE (monoterapie sau politerapie) în orice moment din primul trimestru al sarcinii (7,4%), comparativ cu gravidele cu epilepsie care nu administrau MAE (2,8%). Analiza în dinamică (peste 2 decenii) a rezultatelor acestui registru evidențiază o creștere semnificativă ( $p=0,001$ ) a utilizării acidului folic ( $\geq 5$  mg/zi) cu o lună până la sarcină și în primul trimestru de sarcină, și o scădere a frecvenței convulsiilor în timpul sarcinii [29].

Conform rezultatelor unei revizuri sistematice a literaturii de specialitate și unei metaanalize, publicată în 2015, gravidele cu epilepsie au indici crescuți de avort spontan, hemoragie antepartum, hemoragie post-partum, tulburări hipertensive, inducere a travaliului, naștere prin OC, naștere prematură (până la 37 săptămâni de gestație) și retard de dezvoltare intrauterină a fătului. Expunerea la MAE este asociată cu creșterea riscului de hemoragie post-partum, inducere a travaliului, retard de dezvoltare intrauterină a fătului și necesitatea tratamentului în unitatea de terapie intensivă neonatală. Studiul a confirmat existența unei asocieri mici, dar semnificative, a epilepsiei și expunerii la MAE cu rezultatele nefavorabile în sarcină [5, 23].

Mortalitatea maternă reprezintă una dintre principalele preocupări ale autorităților mondiale din domeniul sănătății, precum și ale fiecărei țări în parte, în vederea identificării cauzelor și găsirii unor soluții pentru ameliorarea ei. Riscul mortalității materne anuale din cauza epilepsiei variază de la 0,1% până la 1,0%, în funcție de o serie de factori, în special de frecvența convulsiilor tonice generalizate. CCE necontrolate sunt un factor de risc semnificativ pentru mortalitatea maternă legată de epilepsie atât în timpul sarcinii, cât și în perioada post-partum [30].

La femeile cu epilepsie, mortalitatea maternă este de 10 ori mai mare, decât în populația generală, și de 2-3 ori mai mare, decât la persoanele cu epilepsie de-a lungul vieții [1, 2, 3, 9, 12], fapt determinat de decesul subit inexplicabil (5%) la acest grup de paciente [1, 2]. Majoritatea deceselor cauzate de epilepsie în sarcină (circa 72%) erau prevenibile și se atribuiu unui control deficitar al convulsiilor. Reducerea aderenței la medicamente, comportamente cu risc ridicat și regim suboptimal de administrare a MAE pot contribui la creșterea ratei de mortalitate [9, 30].

Deși, datele privind modificările generale ale controlului CCE în sarcină sunt contradictorii, constatările sunt consistente – risc crescut de CCE pe durata travaliului și nașterii, prelungirea contracțiilor uterine în travaliu, acidoză și hipoxie maternă cu reducerea ritmului cardiac fetal [1, 17]. CCE în travaliu și naștere apar în aproximativ 2-2,5% din cazuri, sau aproape de 10 ori mai frecvent decât la gravidele fără epilepsie, riscul fiind mai mare pentru femeile cu nivelurile MAE subterapeutice [1].

MAE cresc riscul depresiei, anxietății și tulburărilor neuropsihiatrice la gravide în timpul sarcinii sau în primele 12 luni după naștere, au un impact negativ asupra performanței cognitive materne și comportamentului urmașilor lor [12, 31, 32]. Prevalența depresiei de la al 2-lea trimestru până la 6 luni post-partum a variat de la 16% până la 35% la femeile cu epilepsie, comparativ cu 9-12% la femeile din lotul martor. La 6 luni după naștere, prevalența simptomelor generale de anxietate a fost de 10% la femeile cu epilepsie, 5% la femeile fără epilepsie și 7% la femeile cu alte maladii cronice. Riscul depresiei și anxietății la femeile cu epilepsie este determinat de o combinație de factori: severitatea epilepsiei, tratamentul cu MAE, factorii psihosociali adversi și istoric de maladie psihiatrică [31].

Nașterea și perioada postnatală sunt momente vulnerabile pentru femeile cu epilepsie fiind asociate cu durere, stres emoțional, hiperventilație, privare de somn (îngrijirea nou-născutului, alăptări nocturne), depresia post-partum, modificarea farmacocineticii și reducerea complianței la MAE. Deși a fost demonstrat convingător că prin laptele matern copilul primește o cantitate mai mică de MAE, decât prin placenta în timpul dezvoltării sale intrauterine, unele femei refuză să alăpteze sau abandonează tratamentul temându-se de impactul negativ al MAE asupra copilului. În general, riscul absolut de crize postnatale la femeile cu epilepsie este scăzut, dar este mai

mare decât riscul convulsiilor în timpul sarcinii. Unii autori au constatat o creștere cu 5% a cazurilor de convulsii epileptice în timpul și după naștere [1, 3, 27, 28].

Așadar, deși datele reale au fost contradictorii și a existat o variație semnificativă a complicațiilor raportate la femeile cu epilepsie în funcție de etnie, zona geografică și statutul socioeconomic [9, 15], cele mai importante complicații la gravidele cu epilepsie, comparativ cu populația generală, sunt creșterea frecvenței CCE [12], hipertensiunea gestațională (6,0%) [1, 3, 9, 12, 16], preeclampsia [1, 6, 9, 18], eclampsia (1%) [6, 17], hemoragia vaginală antepartum (3,8%) [3, 9, 12, 16, 18, 24] și post-partum (4,6%) [3, 9, 18], travaliul prematur [9, 16], nașterea prematură (7,6%) [3, 6, 9, 12, 15, 16, 18], avortul spontan (9,1%) [3, 6, 9, 12, 18, 24], nașterea prin OC (29,2%) [3, 9, 12, 16, 18], abrupția placentară [6, 16, 24], sindromul ovarian polichistic [17] și moartea subită maternă [1, 9, 12]. Rămâne neclară etiologia acestor complicații – MAE sau epilepsia sau efectul lor combinat [3, 6, 9, 12, 15, 16, 18].

**Concluzii.** Circa 2/3 dintre femeile cu epilepsie rămân stabile în timpul sarcinii și marea majoritate (circa 90-96%) au sarcini normale (fără evenimente deosebite) și nasc copii perfect sănătoși. Cu toate acestea, sarcina la acest grup de femei poate fi asociată cu un risc mai mare de complicații (materne și fetale) decât în populația generală.

Cele mai importante complicații la gravidele cu epilepsie sunt creșterea frecvenței CCE, hipertensiunea gestațională, preeclampsia, eclampsia, hemoragia vaginală antepartum și post-partum, travaliul prematur, nașterea prematură, avortul spontan, nașterea prin OC, abrupția placentară, sindromul ovarian polichistic și moartea maternă subită. În scopul reducerii riscului acestor complicații, este necesar de folosit un protocol predefinit pentru supravegherea femeilor cu epilepsie activă preconcepțional și în timpul sarcinii.

#### Bibliografie

1. Harden C., Lu C. Epilepsy in Pregnancy. *Neurol Clin.* 2019; 37(1): 53-62.
2. Hart L.A., Sibai B.M. Seizures in pregnancy: epilepsy, eclampsia, and stroke. *SeminPerinatol.* 2013; 37(4): 207-224.
3. Bhatia M., Adcock J., Mackillop L. The management of pregnant women with epilepsy: a multidisciplinary collaborative approach to care. *ObstetGynaecol.* 2017; 19: 279-288.
4. Vélez-Ruiz N.J., Pennell P.B. Issues for Women with Epilepsy. *Neurol Clin.* 2016; 34(2):411-425.
5. Viale L., Allotey J., Cheong-See F. et al. Epilepsy in pregnancy and reproductive outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet.* 2015; 386(10006): 1845-1852.
6. Kaplan P., Norwitz E., Ben-Menachem E. et al. Obstetric risks for women with epilepsy during pregnancy. *Epilepsy Behav.* 2007; 11(3): 283-291.

7. Puttachary S., Sharma S., Stark S., Thippeswamy T. Seizure-induced oxidative stress in temporal lobe epilepsy. *BiomedRes Int.* 2015; 2015: 745613.
8. Chi G., Huang Z., Li X. et al. Substance P Regulation in Epilepsy. *CurrNeuropharmacol.* 2018; 16(1): 43-50.
9. Bollig K.J., Jackson D.L. Seizures in Pregnancy. *ObstetGynecol Clin North Am.* 2018; 45(2): 349-367.
10. Tatum W., Rubboli G., Kaplan P. et al. Clinical utility of EEG in diagnosing and monitoring epilepsy in adults. *Clin Neurophysiol.* 2018; 129(5): 1056-1082.
11. Groppa S., Chiosa V., Cobileanschi O. et al. Epilepsia la adult. Protocol clinic național. Chișinău, 2017.
12. Epilepsy in Pregnancy. RCOG Green-top Guideline No. 68. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. 2016, 33 p.
13. George I.C. How do you treat epilepsy in pregnancy? *Neurol Clin Pract.* 2017; 7(4): 363-371.
14. Kuszniur Vitturi B., Barreto Cabral F., Mella Cukiert C. Outcomes of pregnant women with refractory epilepsy. *Seizure.* 2019; 69: 251-257.
15. Soontornpun A., Choovanichvong T., Tongsong T. Pregnancy outcomes among women with epilepsy: A retrospective cohort study. *Epilepsy Behav.* 2018; 82: 52-56.
16. Swartjes J.M., van Geijn H.P. Pregnancy and epilepsy. *Eur J ObstetGynecolReprod Biol.* 1998; 79: 3-11.
17. Kevill J., Gonzalez-Toledo E. Epilepsy and Pregnancy. In: Minagar A. (ed.) *Neurological Disorders and Pregnancy.* London: Elsevier Inc., 2011. pp. 91-121.
18. Borgelt L.M., Hart F.M., Bainbridge J.L. Epilepsy during pregnancy: focus on management strategies. *Int J Womens. Health.* 2016; 8: 505-517.
19. Bansal R., Jain G., Kharbanda P. et al. Maternal and neonatal complications during pregnancy in women with epilepsy. *Int J Epilep.* 2016; 3: 80-85.
20. Vajda F., O'Brien T., Graham J. et al. The outcomes of pregnancy in women with untreated epilepsy. *Seizure.* 2015; 24: 77-81.
21. Lawther L., Dolk H., Sinclair M. et al. The preconception care experiences of women with epilepsy on sodium valproate. *Seizure.* 2018; 59: 82-89.
22. Çilliler A., Güven H., Çomoğlu S. Epilepsy and Pregnancy: A Retrospective Analysis of 101 Pregnancies. *Epilepsi.* 2019; 25(2): 69-75.
23. Viinikainen K., Heinonen S., Eriksson K. et al. Community-based, prospective, controlled study of obstetric and neonatal outcome of 179 pregnancies in women with epilepsy. *Epilepsia.* 2006; 47(1): 186-192.
24. Mahajan M., Pal A. Risks and management of pregnancy in women with epilepsy: a review. *Int J Reprod Contracept Obstet Gynecol.* 2018; 7(4): 1289-1295.
25. Borthen I., Eide M., Daltveit A. et al. Obstetric outcome in women with epilepsy: a hospital-based, retrospective study. *BJOG.* 2011; 118(8): 956-965.
26. Borthen I., Eide M., Veiby G. et al. Complications during pregnancy in women with epilepsy: population-based cohort study. *BJOG.* 2009; 116(13): 1736-1742.
27. Петрухин В.А., Рязанцева Е.В., Цивцивадзе Е.Б. и др. Ведение беременности и родов у беременных с эпилепсией. *Доктор. Ру.* 2017; (8): 22-27.
28. Рязанцева Е.В., Цивцивадзе Е.Б., Новикова С.В. и др. Ведение беременности и родов у беременных с эпилепсией. *Акушерство и Гинекология Санкт-Петербурга.* 2018; (1): 22-25.
29. Trivedi M., Jose M., Philip R. et al. Spontaneous fetal loss in women with epilepsy: prospective data from pregnancy registry in India. *Epilepsy Res.* 2018; 146: 50-53.
30. Leach J., Smith P., Craig J. et al. Epilepsy and Pregnancy: For healthy pregnancies and happy outcomes. Suggestions for service improvements from the Multispecialty UK Epilepsy Mortality Group. *Seizure.* 2017; 50: 67-72.
31. Bjork M., Veiby G., Engelsen B. et al. Depression and anxiety during pregnancy and the postpartum period in women with epilepsy: A review of frequency, risks and recommendations for treatment. *Seizure.* 2015; 28: 39-45.
32. Turner K., Zambrelli E., Bassanese G. et al. Effects of postpartum depression on the behaviour of children born to mothers with epilepsy. *Seizure.* 2019; 73: 31-38.

DIANA HOVANSCAIA, A.SERBENCO, ST. GROPPA

## COMPLICAȚIILE FETALE LA GRAVIDELE CU EPILEPSIE

*Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*

### FETAL COMPLICATIONS IN PREGNANT EPILEPTIC WOMEN

Epilepsy itself and uncontrolled seizures during pregnancy have been associated with obstetric adverse effects fetal loss, fetal hypoxia, neurodevelopmental disorders. Exposure to antiepileptic drugs is the main cause of the substantial increase in the risk of delayed intrauterine development of the fetus, premature birth with small head for gestational age, minor and major congenital malformations, mental retardation or postnatal neurocognitive dysfunctions, fetal and perinatal mortality. The risk of these complications depends on the type, number and dose of anti-epileptic drugs administered: the risk is lower in monotherapy compared to polytherapy and lower dose management compared to larger doses. Maximum risk of teratogenicity for major congenital malformations, cognitive impairment and autistic spectrum, constant and significantly associated with valproate, administered both in monotherapy and in polytherapy. Maintaining a balance between the control of epileptic convulsions and the potential teratogenic effects of the MFA is fundamental to the treatment of pregnant women with epilepsy

**Key words:** epilepsy, pregnancy, birth seizures, antiepileptic drugs, fetal complications, congenital malformation.

### ВНУТРИУТРОБНЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ ПЛОДА У БЕРЕМЕННЫХ С ЭПИЛЕПСИЕЙ

Эпилепсия и судорожные припадки во время беременности сопровождаются возникновением таких акушерских осложнений как прерывание беременности на разных сроках, гипоксия плода, нарушения развития нервной системы у плода. Воздействие противосудорожных препаратов является основной причиной увеличения риска задержки внутриутробного развития плода, незначительных и выраженных врожденных аномалий развития, умственной отсталости или постнатальных нейрокогнитивных дисфункций, внутриутробная и перинатальная смертность. Риск этих осложнений зависит от типа, количества и дозы вводимых лекарств. Риск ниже при монотерапии по сравнению с политерапией и при более низких дозах по сравнению с более высокими дозами. Максимальный риск тератогенности при серьезных врожденных пороках развития, когнитивных нарушениях и расстройств аутистического спектра задокументирован, последовательно и в значительной степени связан с вальпроатом, назначаемым как для монотерапии, так и для политерапии. Поддержание баланса между контролем эпилептических припадков и потенциальными тератогенными эффектами АЭЛ имеет основополагающее значение при лечении беременных женщин с эпилепсией.

**Ключевые слова:** эпилепсия, беременность, роды, конвульсии, противосудорожные препараты, материнские осложнения, осложнения плода.

**Actualitatea problemei.** Epilepsia este cea mai frecventă problemă neurologică gravă cu care se confruntă obstetricienii și ginecologii. Importanța acestei afecțiuni în sarcină constă în necesitatea administrării medicamentelor antiepileptice (MAE). Printre multiplele probleme pentru care există suspexții și se impun investigații suplimentare se numără efectul convulsiilor, epilepsiei și MAE asupra fătului, nou-născutului și copilului. La gravidele cu epilepsie, clinicienii se confruntă cu o provocare dublă – controlul convulsiilor și prevenirea teratogenității MAE [1].

Studiul recent au relevat o majorare concludentă a numărului de sarcini și nașteri la femeile cu epilepsie, fapt determinat de reducerea semnificativă a stigmatizării

și creșterea ponderii remisiunilor medicamentoase la acest grup de paciente [2, 3]. Utilizarea MAE pentru alte indicații decât epilepsia crește și mai mult rata sarcinilor expuse acestor remedii. Dar, în pofida acestui fapt, peste 2/3 dintre femeile cu epilepsie rămân stabile în timpul sarcinii și marea lor majoritate (circa 90-96%) au sarcini și nașteri normale cu copii perfect sănătoși [4, 5, 6, 7].

Cu toate acestea, conduita sarcinii și nașterii la pacientele cu epilepsie rămâne o problemă medicală foarte complicată. Crizele necontrolate, agravarea crizelor în sarcină, expunerea preconcepțională și în timpul sarcinii la MAE se pot solda cu morbiditate și mortalitate maternă și fetală [10, 11, 12, 13, 14, 15].

**Scopul** acestei lucrări constă în elucidarea rolului crizelor convulsive epileptice materne și administrării medicamentelor antiepileptice în dezvoltarea complicațiilor fătului, nou-născutului și copilului pentru elaborarea unei strategii eficiente de conduită și tratament a gravidelor cu epilepsie.

**Efectul epilepsiei materne asupra fătului.** Riscul complicațiilor fetale și neonatale la gravidele cu epilepsie este independent de efectele MAE și depinde de tipul crizelor convulsive epileptice (CCE) materne. Cu toate că alte tipuri de crize au efecte neglijabile, convulsiile tonico-clonice generalizate: 1) cresc presiunea în uterul gravidei și pot apărea traumatisme dacă pacienta cade [1, 8, 9, 11, 13, 16], 2) induc hipoxia și acidoza lactică, care se transferă la făt [1, 5, 8, 9, 11], 3) provoacă bradicardie la făt, posibil determinată de hipoxia maternă indusă de criză [1, 4, 5, 8, 9, 11], 4) statusul epileptic poate duce la deces matern și fetal intrauterin [1, 5, 8, 9, 11]. Femeile cu epilepsie netratată prezintă un risc mai mare de a avea copii cu retard de creștere și disfuncție cognitivă (1,4-6,0%), comparativ cu populația generală (1%) [1, 10].

Crizele tonico-clonice în timpul travaliului pot compromite cooperarea pacientei, cauzată de tulburări neurologice sau dereglări mentale, complicând nașterea [4, 8, 9]. Deși datele despre riscurile fetale la gravidele cu CCE sunt destul de limitate, în general se presupune că crizele tonico-clonice generalizate necontrolate sunt mai dăunătoare pentru făt decât MAE [2, 6, 8].

Riscul de transmitere a epilepsiei la copil este foarte mic. Cu toate acestea, în cazuri specifice, există un risc de epilepsie generalizată idiopatică de 5-20% (în cazul afectării unui părinte) și mai mare de 25% (în cazul afectării ambilor părinți) [12]. În opinia mai multor savanți, epilepsia nu se transmite direct ca maladie, dar sub forma unor tulburări biochimice în sistemele enzimatic și metabolic, care determină predispoziția spre convulsii a creierului [7, 17].

Așadar, epilepsia în sine și convulsiile necontrolate în timpul sarcinii au fost asociate cu apariția efectelor adverse obstetricale: pierdere fetală, hipoxie fetală și tulburări de neurodezvoltare (dizabilități intelectuale și motorii, tulburări de limbaj și dereglări din spectrul autist, deficit de atenție și dificultăți specifice de învățare) [18, 19].

**Efectul medicamentelor antiepileptice asupra fătului.** În prezent nu există nici un MAE complet lipsit de efecte adverse, iar majoritatea remediilor traversează placenta și într-o măsură mai mare sau mai mică manifestă efect teratogen. Obiectivul principal în gestionarea gravidelor cu tulburări convulsive este obținerea controlului epilepsiei cu remisiunea afecțiunii materne și minimizarea impactului negativ al maladiiei și al remediilor folosite în tratamentul acesteia. Însă, acest scop este dificil de realizat, în primul rând, din cauza riscului complicațiilor fetale legate de tratamentul antiepileptic [3, 4, 6, 13]

Cele mai importante complicații atribuite toxicității MAE

pentru făt reprezintă retardul de dezvoltare intrauterină a fătului (9,8%) [6, 8, 9, 11, 12, 16], nașterea prematură cu copil mic pentru vârsta gestațională (6,8% pentru lamotrigină, 12,2% pentru zonisamidă și 17,9% pentru topiramid) [12, 16, 20], malformațiile congenitale minore și majore [6, 8, 9, 11, 16], retardul mental sau disfuncțiile neurocognitive postnatale (abilitatea verbală, modificări ale comportamentului, funcția executivă și memoria) [6, 8, 9, 11, 16, 21], mortalitatea fetală (0,8%) și mortalitatea perinatală (1,3%) [8, 9, 11].

**Retardul de dezvoltare intrauterină a fătului.** Modificări antropometrice (reduceri ale dimensiunilor corpului, în special a circumferinței capului, greutate mică la naștere, nou-născut mic pentru vârsta gestațională) au fost raportate în multe loturi de copii expuși in utero la MAE [10, 13, 20]. Cel mai frecvent, retardul de dezvoltare intrauterină a fătului a fost asociat cu expunerea in utero la politerapie, deși unii autori au constatat asocieri cu expunerea in utero la monoterapie cu fenobarbital, primidonă sau carbamazepină. Există o tendință clară de normalizare a circumferinței capului după conversia de la politerapie la monoterapie cu MAE, chiar în pofida creșterii ratei de administrare a carbamazepinei [1, 8].

**Malformațiile congenitale minore** sunt variațiile structurale cosmetice, fără importanță medicală sau chirurgicală. Incidența acestor anomalii este de aproximativ 2,5 ori mai mare la copiii mamelor tratate pentru epilepsie, comparativ cu populația generală în ansamblu, și variază semnificativ între studii – de la 6% până la 20% [9, 10, 14, 15, 16, 20].

Caracteristicile faciale (hipertelorism, punte nazală deprimată, punte nazală largă, urechi joase, micrognație, sprâncene arcuite subțiri cu deficiență medială, nas scurt antevertit, filtrum lung neted cu buza superioară subțire și hipoplazia digitală distală) au fost raportate în asocieri cu expunerea la MAE. Vom menționa că, din cauza patogenezei controversate a malformațiilor congenitale minore și suprapunerii considerabile în diferite dismorfisme, dependența acestora de MAE devine incertă, iar unii savanți au atribuit majoritatea anomaliilor minore factorilor genetici, și nu expunerii in utero la MAE [8, 10, 14, 22].

**Malformațiile congenitale majore (MCM)** sunt „anomalii structurale de importanță chirurgicală, medicală, funcțională sau cosmetică” care apar în timpul organogenezei în primul trimestru de sarcină [13]. MCM este una dintre cele mai periculoase complicații ale sarcinii și ocupă primul loc printre factorii care duc la dizabilitatea și decesul copilului [2, 3].

Multiple studii au constatat asocierea MAE administrate femeilor cu epilepsie în monoterapie, dar îndeosebi administrate în politerapie, cu o creștere de 2-3 ori a riscului general de MCM (4-9%, comparativ cu 2-4% la femeile care nu suferă de epilepsie) [2, 5, 6, 7, 22]. Defectele car-

diace, defectele tubului neural, anomaliile scheletice (defectele de reducere ale membrelor), defectele urogenitale (hipospadiasul) și fisurile faciale sunt cele mai frecvente MCM, depistate la copiii expuși în utero la MAE [1, 5, 10, 18, 23, 24].

Rezultatele unei metaanalize, publicate în 2004, au demonstrat că epilepsia în sine nu este asociată cu o creștere a riscului MCM. În schimb, descendenții femeilor cu epilepsie au rate mai mari de MCM datorate, în principal, efectului teratogen al MAE [4, 18]. Probabilitatea generală a MCM la nou-născuții expuși la oricare remediu anticonvulsivant în utero este de 2-3 ori mai mare, comparativ cu populația generală, și variază semnificativ în diferite studii – de la 2,2% până la 14% [4, 14, 18, 20, 25, 26]. Copiii femeilor care folosesc MAE pentru tratamentul epilepsiei sau pentru tratamentul altor afecțiuni prezintă un risc similar de MCM [25].

Rezultatele cumulative din 26 de studii controlate au constatat o rată de MCM de 6,1% la descendenții femeilor cu epilepsie tratate cu MAE (n=4630), comparativ cu 2,8% – la copiii femeilor cu epilepsie netratate cu MAE (n=1292) și cu 2,2% – la copiii femeilor fără epilepsie (n=40221) [1, 8]. Riscul general pentru MCM a fost de aproximativ 2,2% pentru carbamazepină, 3,2% pentru lamotrigină, 3,7% pentru fenitoină și 6,0-9,0% pentru valproat [4, 20]. Riscul MCM în a doua sarcină a constituit 16,8-35,7% în cazul în care în prima sarcină a fost depistată o MCM sau de 3,0-3,1% în cazul în care prima sarcină a fost normală [4, 15]. Rata de MCM la copiii expuși în utero la valproat a fost de 57% în cazul în care în prima sarcină a fost diagnosticată o MCM [15].

Majoritatea autorilor consideră că incidența MCM la nou-născuții neexpuși la MAE nu depășește indicatorul pentru populația în ansamblu (2-4%) [12, 14, 15, 20, 25, 26], de unde rezultă că principala cauză a riscului crescut de MCM sunt MAE, iar epilepsia în sine nu crește semnificativ acest risc [7, 14]. Probabilitatea dezvoltării unei anomalii congenitale majore depinde de tipul, doza, numărul și combinațiile MAE, de vârsta maternă și istoricul parental de malformații congenitale, variabile care trebuie luate în considerare la elaborarea unui plan de tratament al epilepsiei la femeile cu potențial fertil [6, 7, 9, 14, 22].

Conform datelor Registrelor MAE în Sarcină din Europa, America de Nord, Marea Britanie, Australia, India și ale unor studii de amploare (retrospective și prospective populaționale și de cohortă) din multe țări privind ratele de MCM, prevalența generală a MCM pentru toate cazurile expuse la MAE a fost de 4,2%, comparativ cu 3,5% pentru sugarii femeilor cu epilepsie care nu au folosit MAE în timpul sarcinii [8]. Ignorând perioadele de realizare a studiilor, diversele metodologii clinice utilizate și dozele administrate, rata MCM pentru sarcinile expuse la diferite MAE a fost de 2,2-10,7% în monoterapie [8, 16] și de 6-16,8% în politerapie [11, 16]. Rate mai mari de MCM asociate cu valproatul (5,6-24,2%) [8, 11, 13, 16, 20, 26] și fenobarbitalul (5,4-13,7%) [16], rate mai mici de MCM asociate cu topiramatul (2,4-7,1%) [13, 16], carbamaze-

pina (0,7-6,3%) [8, 11, 13, 16, 26], fenitoina (2,9-3,7%) [16], lamotrigina (2,0-3,2%) [8, 11, 13, 16, 26] și levetiracetamul (0-2,4%) [13, 16] au fost constatări consecvente. MCM erau diagnosticate mai frecvent la administrarea dozelor mai mari de MAE [8, 11, 13, 16, 26].

Vom menționa că analiza comparativă a rezultatelor sarcinii și ratelor MCM din diferite registre și studii observaționale trebuie efectuată cu prudență din cauza diferențelor semnificative ce țin de metodologie, inclusiv de metodele de înscriere și includere a datelor, criteriile de excludere, durata supravegherii și criteriile de evaluare a rezultatului teratogen [27].

Importanța susceptibilității genetice la efectele teratogene ale MAE este susținută și de studiile de caz-control. Majoritatea cercetărilor raportează rate mai mari de MCM la copii expuși în utero la politerapie cu MAE (17%), comparativ cu cei expuși la monoterapie (3%), și o relație semnificativă doză-efect [8, 12, 15, 26, 27]. Conform datelor cumulative din 74 de studii, rata MCM a fost de 6,8% în rândul copiilor expuși în utero la politerapie (n=4253), comparativ cu 4,0% – la cei expuși în utero la monoterapie cu MAE (n=8339) [8].

Cea mai cunoscută, documentată și semnificativ mai mare teratogenitate a MAE este administrarea valproatului, care cauzează malformații congenitale ale tubului neural, cardiace și scheletice (4,42-6,3%, comparativ cu 0,9-1,53% în lotul martor) [6, 14, 19, 21, 23, 24]. Riscul MCM este de 10-10,3%, fiind clar asociat cu tratamentul în politerapie și cu doza [13, 14, 19, 23, 24, 26]. Doza zilnică  $\geq 1450$ -1500 mg este asociată cu un risc de 24-25,2%, iar doza zilnică  $\leq 650$ -700 mg/zi – cu un risc mult mai mic (5-6,3%) [13, 23, 24, 26], care este practic similar cu rata de risc a lamotriginei și carbamazepinei [15, 24].

Registrul MAE în Sarcină din Europa, un studiu de cohortă de amploare cu utilizarea datelor din registrele similare din Marea Britanie, Australia și India, a obținut cea mai clară dovadă a riscului MCM asociat cu doza pentru opt cele mai frecvent utilizate MAE (carbamazepină, lamotrigină, levetiracetam, oxcarbazepină, fenobarbital, fenitoină, topiramatul și valproat) administrate în monoterapie. Prevalența MCM a variat de la 2,8% pentru levetiracetam până la 10,3% pentru valproat. Acest indicator a crescut odată cu doza administrată la momentul concepției pentru carbamazepină (p=0,014), lamotrigină (p=0,0145), fenobarbital (p=0,039) și valproat (p<0,0001). Prevalența MCM a fost semnificativ majorată pentru toate dozele de carbamazepină și valproat [24]. Ratele MCM au fost cele mai scăzute în raport cu o doză <300 mg/zi pentru lamotrigină (1,7%) și <400 mg/zi pentru carbamazepină (2%) și au crescut până la 3,6% când doza era  $\geq 300$  mg/zi la lamotrigină și până la 7,7% la o doză  $\geq 1000$  mg/zi de carbamazepină [15].

O revizuire sistematică a literaturii și metaanaliză recentă a constatat că pentru dezvoltarea MCM, etosuximida, valproatul, topiramatul, fenobarbitalul, fenitoina, carbamazepina în monoterapie și 11 tipuri de politerapie au avut un efect teratogen semnificativ mai mare [22]. MAE

de generație nouă: lamotrigina (2,9%), levetiracetamul (2,8%) și oxcarbazepina (3,0%) nu au fost asociate cu o creștere semnificativă a riscului MCM și semnificativ mai puțin probabil au fost asociate cu malformațiile congenitale cardiace. Riscul MCM pentru MAE noi se află în intervalul raportat în literatura de specialitate pentru sugarii neexpuși la MAE (2,6%) [6, 22, 24]. Totuși, aceasta nu exclude efectul nociv al acestor remedii pentru sugarii/copiii expuși in utero [22].

O altă problemă obstetricală importantă este administrarea acidului folic preconcepțional și pe durata sarcinii. Nivelurile scăzute de foliați materni au fost asociate cu un risc crescut de rezultate adverse ale sarcinii în populația generală și la femeile care au administrat MAE. Deși s-a confirmat ipoteza că suplimentarea periconcepțională cu foliați reduce semnificativ riscul de MCM (cu circa 50%), în special, al defectelor tubului neural și al dereglărilor cognitive în populația generală [8, 15, 20, 21, 23], încă lipsesc dovezi concludente privind eficiența acidului folic în prevenirea teratogenității induse de MAE și se discută doza adecvată de suplimentare [8, 23, 24, 26, 27]. Cu toate că eficiența în prevenirea MCM nu a fost documentată, efectul protector al suplimentării periconcepționale cu acid folic asupra rezultatului cognitiv a fost constatat. Femeilor cu istoric familial de MCM sau celor expuse la MAE, acidul folic este, de obicei, recomandat în doze de la 0,4-0,5 mg/zi până la 5 mg/zi preconcepțional și pe toată durata sarcinii pentru a reduce riscul MCM și al deficitului cognitiv pe termen lung [4, 10, 13, 14, 23, 26].

Așadar, expunerea fătului la MAE in utero este asociată cu un risc de 2-3 ori mai mare de MCM, comparativ cu populația generală. Motivul este, probabil, multifactorial, inclusiv efectele convulsiilor și ale epilepsiei, factorii genetici și efectele teratogene ale MAE. Totodată, dovezile recente sugerează ferm că expunerea la MAE este cauza cea mai importantă, sub acest aspect riscul MCM este dependent de doză și de numărul remediilor administrate, iar utilizarea frecventă a MAE de ultimă generație și a acidului folic a redus semnificativ incidența acestor complicații.

**Evoluția neonatală și dezvoltarea postnatală a copiilor proveniți din mame cu epilepsie.** Cea mai mare preocupare privind alăptarea nou-născuților în cazul mamelor cu epilepsie este transferul potențial de medicamente antiepileptice prin laptele matern și efectele secundare ale acestora. Conform estimărilor efectuate de către cercetători, concentrația MAE în laptele matern este scăzută pentru multe remedii (nu depășește 1% din doza maternă), copilul primește o cantitate mult mai mică de preparat, decât prin placentă în timpul dezvoltării sale intrauterine, și ea nu provoacă efecte adverse la copiii sănătoși [2, 3, 4, 6, 20]. Fenitoina, valproatul, carbamazepina și lacosamida au un conținut scăzut în laptele matern. Celelalte MAE au fie o penetranță scăzută în laptele matern, un nivel scăzut în serul sangvin al sugarilor, fie efecte adverse rare [28]. Datorită timpului de înjumătățire lung și imaturității căilor de metabolizare a medicamentelor la nou-născuți, fe-

nobarbitalul, etosuximida, lamotrigina și benzodiazepinele se pot acumula, cauzând efect sedativ (somnia) și hipotensiune, cu un reflex de supt slab și stagnarea în greutate a sugarului [6, 8, 10, 11, 16, 23].

Cercetările privind efectele negative ale expunerii prenatale la MAE asupra dezvoltării postnatale pe termen lung sunt rare și au ajuns la concluzii parțial contradictorii. Mai multe studii populaționale nu au găsit nicio influență asupra coeficientului intelectual global și a dezvoltării psihomotorii, unele studii au raportat capacitate intelectuală globală mai mică, iar disfuncția cognitivă observată la copiii expuși, în principal la fenitoină și carbamazepină, a fost atribuită predominant CCE materne și nivelului educațional al părinților, decât tratamentului cu MAE [1, 5, 8, 11, 26].

Au fost acumulate date importante despre efectele negative ale administrării valproatului în timpul sarcinii. Tratamentul cu valproat este semnificativ și evident asociat cu deficiențe cognitive și autism (dificultăți în coordonarea motorie și a atenției, tulburări funcționale ale comunicării și interacțiunii sociale) la copiii din mame cu epilepsie, comparativ cu copiii mamelor practic sănătoase. Efectele cognitive de valproat depind de doză, cu rezultate mai bune la o doză <1000 mg/zi [1, 6, 21]. Dozele mari de valproat au fost asociate negativ cu coeficientul de inteligență, capacitatea verbală, abilitatea de comunicare non-verbală, funcția executivă și cea de memorare [21]. Există dovezi că levetiracetamul este cel mai sigur medicament în ceea ce privește MCM și disfuncția cognitivă la copiii născuți din mame cu epilepsie tratate cu MAE [1, 6, 13].

**Concluzii.** Există o creștere substanțială a riscului MCM (de 2-3 ori) la copiii născuți de mame cu epilepsie, comparativ cu populația generală, determinat de expunerea in utero la MAE [12]. Riscul de teratogenicitate și MCM la făt depinde de tipul, numărul și doza MAE administrate – este mai mare la doze mai mari, la tratament în politerapie, iar pentru valproat, indiferent de regimul de tratament [1, 11, 12, 13, 16].

Îngrijirea prenatală bine planificată, monitorizarea atenției a tratamentului femeilor cu epilepsie (folosirea unui MAE adecvat pentru controlul crizelor, administrat în monoterapie și cu cea mai mică doză eficientă preconcepțional și pe toată durata sarcinii) și testarea prenatală pentru malformații congenitale cresc probabilitatea unui rezultat normal al sarcinii. Cu toate acestea, este necesară supravegherea pe termen lung a dezvoltării neurologice și cognitive a copiilor care provin din mame cu epilepsie activă [1, 2, 3, 4].

#### Bibliografie

1. Bansal R., Jain G., Kharbanda P. et al. Maternal and neonatal complications during pregnancy in women with epilepsy. *Int J Epilep.* 2016; 3: 80-85.
2. Петрухин В.А., Рязанцева Е.В., Цивцивадзе Е.Б. и др. Ведение беременности и родов у беременных с эпилепсией. *Доктор. Ру.* 2017; (8): 22-27.

3. Рязанцева Е.В., Цивцивадзе Е.Б., Новикова С.В. и др. Ведение беременности и родов у беременных с эпилепсией. *Акушерство и Гинекология Санкт-Петербурга*. 2018; (1): 22-25.
4. Bollig K.J., Jackson D.L. Seizures in Pregnancy. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2018; 45(2): 349-367.
5. Swartjes J.M., van Geijn H.P. Pregnancy and epilepsy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1998; 79: 3-11.
6. Мухин К.Ю., Пылаева А.О., Петрухин А.С. Безопасность и переносимость антиэпилептических препаратов у женщин с эпилепсией (обзор литературы и собственные данные). *Русский журнал детской неврологии*. 2018; 13(4): 7-22.
7. Доброхотова Ю.Э., Хейдар Л.А., Бояр Е.А. и др. Больные эпилепсией в акушерско-гинекологической практике: современное состояние вопроса, проблемы и пути их решения (обзор литературы). *Вестник РГМУ* 2014; (4): 45-48.
8. Tomson T., Battino D. Chapter 16. The Management of Epilepsy in Pregnancy. In: Shorvon S., Pedley T. (eds.) *The epilepsies 3*. Philadelphia: Saunders Elsevier Inc., 2009. pp. 241-264.
9. Kevill J., Gonzalez-Toledo E. 6. Epilepsy and Pregnancy. In: Minagar A. (ed.) *Neurological Disorders and Pregnancy*. London: Elsevier Inc., 2011, p. 91-121.
10. Mahajan M., Pal A. Risks and management of pregnancy in women with epilepsy: a review. *Int J Reprod Contracept Obstet Gynecol*. 2018; 7(4): 1289-1295.
11. Epilepsy in Pregnancy. RCOG Green-top Guideline No. 68. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. 2016, 33 p.
12. Borgelt L.M., Hart F.M., Bainbridge J.L. Epilepsy during pregnancy: focus on management strategies. *Int J Womens Health*. 2016; 8: 505-517.
13. Khuda I., Aljaafari D. Epilepsy in pregnancy. A comprehensive literature review and suggestions for saudi practitioner. *Neurosciences*. 2018; 23(3): 185-193.
14. Bhatia M., Adcock J., Mackillop L. The management of pregnant women with epilepsy: a multidisciplinary collaborative approach to care. *Obstet Gynaecol*. 2017; 19: 279-288.
15. Harden C.L. Pregnancy and epilepsy. *Continuum (Minneapolis)*. 2014; 20(1 Neurology of Pregnancy): 60-79.
16. Patel S.I., Pennell P.B. Management of epilepsy during pregnancy: an update. *Ther Adv Neurol Disord*. 2016; 9(2): 118-129.
17. Deprez L., Jansen A., De Jonghe P. Genetics of epilepsy syndromes starting in the first year of life. *Neurology*. 2009; 72(3): 273-281.
18. Kuznir Vitturi B., Barreto Cabral F. et al. Outcomes of pregnant women with refractory epilepsy. *Seizure*. 2019; 69: 251-257.
19. Bromley R.L., Baker G.A. Fetal antiepileptic drug exposure and cognitive outcomes. *Seizure*. 2017; 44: 225-231.
20. Vélez-Ruiz N.J., Pennell P.B. Issues for Women with Epilepsy. *Neurol Clin*. 2016; 34(2): 411-425.
21. Meador K., Baker G., Browning N. et al. Fetal antiepileptic drug exposure and cognitive outcomes at age 6 years (NEAD study): a prospective observational study. *Lancet Neurol*. 2013; 12(3): 244-252.
22. Veroniki A., Cogo E., Rios P. et al. Comparative safety of anti-epileptic drugs during pregnancy: a systematic review and network meta-analysis of congenital malformations and prenatal outcomes. *BMC Med*. 2017; 15(1): 95.
23. Harden C., Lu C. Epilepsy in Pregnancy. *Neurol Clin*. 2019; 37(1): 53-62.
24. Tomson T., Battino D., Bonizzoni E. et al. Comparative risk of major congenital malformations with eight different antiepileptic drugs: a prospective cohort study of the EURAP registry. *Lancet Neurol*. 2018; 17(6): 530-538.
25. Jazayeri D., Graham J., Hitchcock A. et al. Outcomes of pregnancies in women taking antiepileptic drugs for non-epilepsy indications. *Seizure*. 2018; 56: 111-114.
26. George I.C. How do you treat epilepsy in pregnancy? *Neurol Clin Pract*. 2017; 7(4): 363-371.
27. Vajda F.J., Graham J.E., Hitchcock A.A. et al. Antiepileptic drugs and foetal malformation: analysis of 20 years of data in a pregnancy register. *Seizure*. 2019; 65: 6-11.
28. Sabers A., Tomson T. Managing antiepileptic drugs during pregnancy and lactation. *Curr Opin Neurol*. 2009; 22(2): 157-161.



© <sup>1</sup>Ana Mișina, <sup>1</sup>Patricia Harea, <sup>1</sup>Diana Madan, <sup>2</sup>V. Petrovici,  
<sup>3</sup>Corina Șcerbatiuc-Condur, <sup>3,4</sup>I. Mișin

<sup>1</sup>ANA MIȘINA, <sup>1</sup>PATRICIA HAREA, <sup>1</sup>DIANA MADAN, <sup>2</sup>V. PETROVICI,  
<sup>3</sup>CORINA ȘCERBATIUC-CONDUR, <sup>3,4</sup>I. MIȘIN

## LIPOMUL VULVAR: ANALIZA A ȘAPTE CAZURI CONSECUTIVE

*Institutul Mamei și Copilului, <sup>1</sup>Secția Ginecologie Chirurgicală, <sup>2</sup>Secția morfologie,  
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, <sup>3</sup>Catedra de Chirurgie nr. 1 „Nicolae Anestiadi”,  
<sup>4</sup>Institutul de Medicină Urgentă*

### SUMMARY

#### LIPOMA OF THE VULVA: ANALYSIS OF SEVEN CONSECUTIVE CASES

The authors present the results of the diagnosis and surgical treatment of seven adult patients with vulvar lipoma - one of the largest series published in the specialist literature.

**Key words:** lipoma, vulva

### РЕЗЮМЕ

#### ЛИПОМА ВУЛЬВЫ: АНАЛИЗ СЕМИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНЫХ СЛУЧАЕВ

Авторами представлены результаты диагностики и хирургического лечения семи взрослых пациенток с липомой вульвы – одной из наиболее многочисленных серий опубликованных в специализированной литературе.

**Ключевые слова:** липома, вульва

**Introducere.** Lipomul se referă la una dintre cele mai frecvente tumori ale țesuturilor moi de origine mezenchimală. El este preponderent situat în țesutul subcutanat și histologic fiind prezentat din celule grăsoase mature. Cel mai des lipomul se localizează în regiunea capului și gâtului, umerilor, spatelui, abdomenului și părților proximale ale membrilor [1].

Lipomul vulvar (LV) – este o tumoare benignă rară. În ultimul timp, în literatura de specialitate, există publicații referitoare la cazuri clinice unice [2-14] și serii mici de pacienți [15, 16].

Scopul lucrării – studierea particularităților manifestărilor clinice, diagnosticului radiologic, rezultatelor tratamentului chirurgical și caracteristicilor morfologice ale LV.

**Material și metode.** A fost efectuată analiza retrospectivă a bazei de date a formațiunilor de volum ale vulvei și perineului, operate în perioada 1990-2016. Criteriul principal în selectarea acestor pacienți a fost confirmarea morfologică a LV cu luarea în considerare a următorilor factori: (1) vârsta; (2) manifestările clinice; (3) durata bolii; (4) localizarea; (5) semnele ultrasonografice; (6) caracteristicile morfologice.

*Ultrasonografia (USG)* s-a efectuat preponderent cu aparatele Esaote MyLab 15 și Sono Scape 8000 (China) cu utilizarea transductoarelor: pentru examenul

transabdominal 3-5 MHz și transvaginal (rectal) 5–7.5 MHz.

În scopul *examinării histologice* probele s-au fixat în prealabil în sol. Formol de 10%, alcool absolut și fixatorul Cornua. Secțiunile se colorau cu *hematoxilină-eozină*, picrofulxină după Van-Gieson. La etapa de colorație a fost utilizată metoda cu investigarea la microscopia în lumină (ML), cu ajutorul microscopului optic (firma ZEISS), obiectivele x 2,5 ; 10, 20, 40, 100.

*Prelucrarea statistică* a valorilor cantitative s-a efectuat prin metoda analizei variaționale, calculându-se media aritmetică (M), eroarea mediei aritmetice (m) și intervalul de încredere (95% CI).

**Rezultate.** Analiza bazei de date a stabilit șapte cazuri, morfologic confirmate, de LV, ce corespundeau criteriilor de selectare. Caracteristica generală a pacientelor cu LV este prezentată în tabelul1. Vârsta medie a pacientelor cu LV a constituit 43.1±2.2 ani (95% CI:37.63–48.37). Manifestarea clinică principală a LV a fost prezența unei formațiuni tumorale cu creștere lentă, indolentă în regiunea organelor genitale externe. La examenul obiectiv al LV, în toate cazurile, se determina o formațiune tumorală solitară localizată în regiunea labiilor mari și numai într-un caz (#5) tumoarea se extindea pe perineu. La palpate, LV, în majoritatea cazurilor, avea un aspect de tumoare cu contur clar, de o consistență elastică, relativ mobilă și absolut

**Tabelul 1. Caracteristica generală a pacientelor cu lipom vulvar (n=7).**

N d/r	Vârsta (ani)	Partea tumorii	Dimensiunile tumorii (mm)	Localizarea
#1	41	stânga	100x60	labia mare
#2	42	stânga	40x30	labia mare
#3	52	dreapta	60x50	labia mare
#4	47	dreapta	70x50	labia mare
#5	43	stânga	190x130	labia mare + perineu
#6	43	dreapta	75x60	labia mare
#7	33	dreapta	90x80	labia mare

indolore (Fig. 1). În toate cazurile pielea supradiacent acestei formațiuni este de culoare obișnuită, mobilă. La examenul USG (#6, #7) – LV se vizualiza ca o formațiune bine delimitată, ecogenă, hipovasculară, cu o capsulă subțire și structură lobată în interior.

În toate cazurile, sub anestezie generală s-a efectuat excizia (enuclearea) LV cu păstrarea integrității tumorii în limita țesuturilor sănătoase (Fig. 2). Plaga se sutura în

rea acestor paciente a durat în medie  $29.3 \pm 5.4$  luni (95% CI:15.87–42.71) perioada în care pacientele erau asimptomatice, semne de recidivare a LV nu s-au constatat, rezultatul cosmetic a fost stabilit drept unul pozitiv în toate cazurile.

**Discuții LV** se referă la tumorile benigne mezenchimale destul de rar întâlnite și după datele lui Agarwal U. și



**Fig. 1. Formațiune tumorală localizată în regiunea labiei mari drepte.**



**Fig. 2. Aspect intraoperator: excizia lipomului vulvar.**

straturi. Macropreparatul înlăturat prezenta un țesut de culoare gălbuie, lobat, cu capsula subțire, în care necroza, hemoragiile și componentul sarcomatos lipseau (Fig. 3). Dimensiunile maxime ale lipomurilor vulvare depistate au constituit  $87.9 \pm 18.6$  mm (95% CI:42.25–133.5), iar cele minime -  $65.7 \pm 12.1$  mm (95% CI:36.05–95.38). În toate cele 7 cazuri, la examenul histologic, s-a depistat tabloul unui țesut adipos matur cu septuri subțiri din țesut conjunctiv (lipom) (Fig. 4).

Cicatrizarea plăgilor per primam. Pacientele au fost externate în medie la  $5.9 \pm 0.3$  zile postoperator. Supraveghe-

coat. (2004), în literatura de specialitate din străinătate, existau descrise circa 70 de cazuri [2]. Ulterior pentru stabilirea numărului de astfel de tumori s-a recurs la căutarea computerizată a surselor de literatură din aa. 2004 până 2019 după bazele de date Medline, PubMed, Embase, Scopus și Web of Science cu utilizarea cuvintelor-cheie (MeSH Terms): “benign tumors”, “lipoma”, “vulva”, “vulvar”. S-a stabilit că, în această perioadă de timp, au fost prezentate 21 surse documentate privind LV în diferite grupuri de vârstă. Caracteristica generală a pacientelor adulte cu LV este prezentată în



Fig. 3. Macropreparatul unui LV înlăturat.

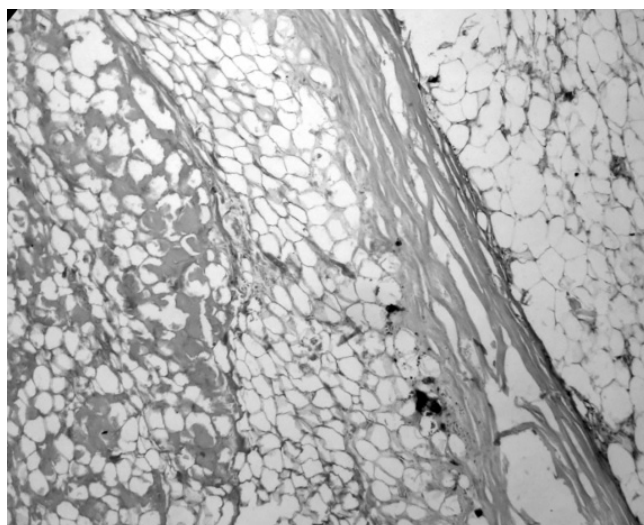


Fig. 4. Examenul histologic: adipocite mature cu septuri subțiri din țesut conjunctiv (colorație Van Gieson).

tabelul 2. Trebuie menționat faptul că LV se atestă în diferite grupuri de vârstă, însă cel mai des sunt descrise cazuri depistate la pacientele adulte, cu vârsta de la 40 până la 60 de ani [6, 14]. Vârsta medie a pacientelor prezentate în tabelul 2 a constituit  $43.3 \pm 6.2$  ani (95% CI:29.40-57.40), indice identic cu rezultatul obținut în studiul nostru. Vom menționa în acest context că acest grup de tumori ale organelor genitale feminine este descris totodată la copiii cu vârsta de la 7 până la 11 ani [15] și la adolescente [13, 14]. Mai mult ca atât Numajiri T. și coaut. (2011) au descris 2 cazuri de LV congenital [16].

Etiopatogenia formării LV până în prezent este neclară. Printre factorii etiologici, un rol destul de important se atribuie traumatismului sau traumelor cronice minimale (iritarea periodică a țesuturilor moi) [13, 17]. Aust MC și coaut. [17] au expus ipoteza că legătura dintre traumă și apariția lipomului are loc prin două mecanisme: (1) prolăbarea țesutului adipos prin defectele fasciilor ca rezultat al acțiunii traumatiche directe; și (2) formarea lipomului cu proliferarea și diferențierea preadipocitelor ca rezultat al erupției citochinelor în urma traumării țesuturilor moi și formării hematomului.

Din punct de vedere clinic LV se caracterizează ca niște formațiuni indolore, cu o creștere lentă [2-15]. Anamnezicul bolii, în cazul LV, indică o perioadă de timp destul de îndelungată ce poate dura de la 6 luni [2] până la 20 de ani [7].

Examenul fizic și palparea pun în evidență trei variante de lipoame vulvare: (1) bine delimitate (incapsulate); (2) tumori cu contur neclar (lipom difuz); și (3) tumori pediculate [7, 8]. Conform datelor literaturii, în majoritatea cazurilor lipoamele se localizau în labiile mari [3-12] și într-un număr cu mult mai mic, în labiile mici [2]. Józwik M și coaut. (2014) au analizat datele literaturii referitoare la LV la copii și adolescente și au stabilit că în 86.7% cazuri tumorile erau localizate

în dreapta [14]. Această legitate a fost era prezentă și în cazul LV depistate la pacientele adulte, inclusiv în studiul nostru.

Dimensiunile lipoamelor vulvare variază în limite destul de largi. Au fost descrise cazuri de tumori gigantice a căror dimensiuni atingeau de la 15 până la 20 cm [3, 5, 7, 11, 14]. Szanecki W. și coaut. (2017) au prezentat un caz de LV având dimensiunile și greutatea cele mai mari descrise în literatură - 23 cm și 6.6 kg [10].

Vom menționa că numai în unele publicații diagnosticul preventiv al LV a fost stabilit preoperator [2, 3, 6]. În literatură sunt prezentate doar cazuri unice de asociere a LV cu alte tumori din această zonă (angiofibrom celular, miom) [4, 10]. Este necesar de a diferenția LV de chisturile glandei Bartholin și canalului Nuck de herniile inghinale [2, 6, 9].

Există rapoarte referitoare la utilizarea USG [3, 5, 7, 9, 11, 13, 14], tomografiei computerizate (TC) [13] și imagisticii prin rezonanță magnetică (IRM) [8, 11, 12, 16] în diagnosticul preoperator al LV. La USG, lipomul vulvar se vizualizează ca o formațiune uniformă, ecogenă, lobulară [3, 5, 7, 9, 11, 13, 14], iar prin datele dopplerografiei a fost stabilită lipsa fluxului sangvin în ea [3]. La tomografia computerizată, LV apare ca o formațiune incapsulată cu densitatea caracteristică țesutului adipos [13]. Datele IRM (T2W) pentru LV indică prezența unei formațiuni omogene cu o intensitate caracteristică țesutului subcutanat. În regimul supresiei țesutului adipos se înregistrează o suprimare a formațiunii tumorale [8, 11, 12, 16]. În cazul LV, utilizarea TC și IRM după părerea unor autori permite: (1) a stabili caracteristicile țesutului tumoral; (2) a evidenția prevalența tumorii; și (3) a determina raportul dintre tumoră și țesuturile adiacente [11-13]. Reda A, Gomaa I. (2018) consideră utilă combinarea USG și IRM, care trebuie considerate metodele cele mai indicate în diagnosticul preoperator al LV [11].

**Tabelul 2. Caracteristica generală a cazurilor pacientelor adulte cu LV, publicate în literatura de specialitate din străinătate (aa. 2007-2019)**

№ d/o	Autorul, anul	Vârsta (ani)	Dimensiunile tumorii (cm)	Metodele imagistice de investigație	Localizarea	Unilaterala	Termenul de supraviețuire (luni), Recidivă (+/-)
#1	Sherer DM. et al. (2007)	86	15x10x3.5	USG	LM	dreapta	NR
#2	Arsenovic NN. et al. (2009)	26	8x5.5x4.5	NR	LM	dreapta	24(-)
#3	Boufettal H. et al. (2012)	36	19x8	USG	LM	stânga	18 (-)
#4	Nunes C. et al. (2013)	51	13	-	LM	dreapta	NR
#7	Coronil-Belloso P. et al. (2013)	46	18.1	USG	LM	dreapta	NR
#8	Jayi S. et al. (2014)	27	6	IRM	LM	stânga	NR
#9	Rodrigues G. et al. (2017)	30	6.2x5.6	USG	LM	stânga	24 (-)
#10	Szanecki W. et al. (2017)	64	20x31x23	TC	LM	dreapta	NR
#11	Reda A. et al. (2018)	43	15	USG + IRM	LM	dreapta	NR
#12	Li S. et al. (2019)	25	18x8.5x3	USG + IRM	LM	dreapta	3 (-)

USG – ultrasonografie, IRM – imagistică prin rezonanță magnetică, TC – tomografie computerizată, NR – nu este raportat, LM – labia mare

Tratamentul chirurgical este metoda de elecție în LV. Principiul de bază în tratamentul acestei patologii este excizia (enuclearea) tumorii în limita țesutului sănătos fără încălcarea integrității acesteia [2-15]. În acest aspect, vom menționa că enuclearea radicală nu prezintă dificultăți tehnice, date fiind particularitățile structurale ale acestor tumori.

În varianta clasică, LV macroscopic prezintă o formațiune incapsulată, în secțiune – de culoare galbenă, lobulată. La examenul histologic se determină celule adipoase mature (adipocite) care sunt separate prin țesut conjunctiv [2-16]. În opinia lui Heller DS. (2015), apariția morfologică a LV este ca și cea a țesutului lipid [1]. Într-un șir de studii în cadrul descrierilor morfologice se indică lipsa focarelor de necroză, hemoragiilor și a componentului de sarcomatoză [3, 5, 8]. La rândul lor Li S. și coaut. (2019), în cadrul unui studiu histologic al LV, au descris porțiuni de necroză și depozite de calciu [12]. Trebuie menționat că pot exista și alte variante histologice ale LV care includ: (1) adenolipom; (2) angiolipom; (3) lipom pleomorf și (4) fusiform [14]. Nu există date despre malignizarea LV, totuși, trebuie efectuată diferențierea acestora cu liposarcomul perineului [8, 14, 9]. Prognosticul tratamentului LV este satisfăcător, totodată în literatura de specialitate n-a fost publicat nici un caz de recidivă al acestei maladii după intervenția chirurgicală durată supraviețuirii de la 3 până la 24 luni [2, 4-6, 9, 12]

### Concluzii

Așadar, lipomul vulvar se referă la una dintre cele mai rare tumori ale organelor genitale feminine externe. Excizia LV cu păstrarea integrității tumorii (R0 rezecție) este

metoda optimală de tratament care asigură un rezultat cosmetic eficient, fără recidivare.

### Bibliografie

- Heller DS. *Benign tumors and tumor-like lesions of the vulva*. Clin Obstet Gynecol. 2015;58(3):526-35.
- Agarwal U, Dahiya P, Sangwan K. *Vulvar lipoma: a rare occurrence*. Arch Gynecol Obstet. 2004;270(1):59-60.
- Sherer DM, Gorelick C, Wagreich A, Lee YC, Serur E, Zigalo A, Abulafia O. *Sonographic findings of a large vulvar lipoma*. Ultrasound Obstet Gynecol. 2007;30(5):786-7.
- Arsenovic NN, Abdulla K, Terzic M, Reed M. *Synchronous presence of cellular angiofibroma and lipoma in vulvoinguinal region: a unique case report*. Am J Dermatopathol. 2009;31(5):468-71.
- Boufettal H, Hermas S, Fareh M, Mahdaoui S, Noun M, Ezzoubi M, Samouh N. *Vulvar lipoma*. Ann Dermatol Venereol. 2012;139(6-7):506-7.
- Nunes C, Oliveira V, Ribeiro J. *Vulvar lipoma: a rare diagnosis*. Acta Med Port. 2013;26(1):70.
- Coronil-Belloso P, Fariña-Pérez LA, Picurelli-Oltra L, Perán-Teruel M, Lorenzo-Lorenzo D, Ares-Rodríguez X, Rojas-Elio JD, Paniagua JC. *Large vulvar lipoma*. Actas Urol Esp. 2013;37(9):594-5.
- Jayi S, Laadioui M, El Fatemi H, Fdili FZ, Bouguern H, Chaara H, Laamarti A, Melhouf MA. *Vulvar lipoma: a case report*. J Med Case Rep. 2014;8:203.
- Rodrigues G., Chandramouli M., Tejaswy K., Shetty D. *Giant lipoma of the left labium majus: a clinical diagnostic challenge*. J Gynecol Surg. 2017;33(5):212-214.
- Szanecki W, Golonka A, Pajak J, Karcz K,

- Wróblewska-Czech A, Witek A, Marszałek A, Madry R, Markowska J. *Two unusual cases: vulvar lipoma – description of the largest case in literature. Developing myoma with the longest pedicle.* Eur J Gynaecol Oncol. 2017;38(2):286-289.
11. Reda A, Gomaa I. *Vulvar lipoma: a case report.* Rev Bras Ginecol Obstet. 2018;40(10):647-649.
  12. Li S, Haag T, McWhorter J, Ge L, Carlan SJ. *Unilateral giant vulvar lipoma with fat necrosis not visualized on magnetic resonance imaging (MRI).* Am J Case Rep. 2019;20:1760-1764.
  13. Lee JH, Chung SM. *Large vulvar lipoma in an adolescent: a case report.* J Korean Med Sci. 2008;23(4):744-6.
  14. Józwick M, Kołodziejczak M, Klonowska-Dziatkiewicz E, Józwick M. *Giant vulvar lipoma in an adolescent girl: a case study and literature review.* J Pediatr Adolesc Gynecol. 2014;27(5):e117-9.
  15. Oh JT, Choi SH, Ahn SG, Kim MJ, Yang WI, Han SJ. *Vulvar lipomas in children: an analysis of 7 cases.* J Pediatr Surg. 2009;44(10):1920-3.
  16. Numajiri T, Nishino K, Sowa Y, Konishi K. *Congenital vulvar lipoma within an accessory labioscrotal fold.* Pediatr Dermatol. 2011;28(4):424-8.
  17. Aust MC, Spies M, Kall S, Gohritz A, Boorboor P, Kolokythas P, Vogt PM. *Lipomas after blunt soft tissue trauma: are they real? Analysis of 31 cases.* Br J Dermatol. 2007;157(1):92-9.

CORINA ȘCERBATIUC-CONDUR<sup>1</sup>, ELINA ȘOR<sup>1,2</sup>, ANA MIȘINA<sup>3</sup>, I. MIȘIN<sup>1,2</sup>

## ENDOMETRIOZA HEPATOBILIARĂ

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”,

<sup>1</sup>Catedra de chirurgie nr. 1 „Nicolae Anestiadi”, Laboratorul Chirurgie Hepato-Pancreato-Biliară,

<sup>2</sup>IMSP Institutul de Medicină Urgentă,

<sup>3</sup>Secția ginecologie chirurgicală, IMSP Institutul Mamei și Copilului

### REZUMAT

#### ENDOMETRIOZA HEPATOBILIARĂ

Endometrioza este o patologie benignă înregistrată la femeile de vârstă fertilă, dar și la cele aflate în perioada postmenopauzală. Cel mai frecvent, aceasta afectează organele pelviane și/sau cele aflate în nemijlocita apropiere de acestea, nefiind explicat pe deplin mecanismul de apariție și diseminare la distanță a acestui proces, la momentul actual existând numeroase teorii și versiuni. Endometrioza hepatică și cea a colecistului sunt unele dintre cele mai rare forme de endometrioza, în literatura de specialitate fiind raportat un număr foarte restrâns de cazuri. Simptomatologia, momentul apariției, anamneza și tactica de tratament în cazurile examinate, diferă de la pacient la pacient, astfel fiind dificil de a face unele constatări cu substrat științific în acest sens. În această revistă a literaturii au fost studiate cazurile publicate în literatura științifică, de la primul caz de endometrioza hepatică relatat de către Finkel L. (1986) până la cele mai recente cazuri.

**Cuvinte-cheie:** endometrioza, endometrioza hepatică, ficat, colecist, endometrioza colecistului.

### SUMMARY

#### HEPATOBILIARY ENDOMETRIOSIS

Endometriosis is a benign pathology recorded in women of childbearing age, but also in postmenopausal women. Most commonly, it affects the pelvic organs and / or those located near them, but the mechanism of appearance and dissemination of this process is not clearly explained, at the moment, numerous theories and versions exist. Hepatic and cholecystic endometriosis is one of the rarest forms of endometriosis, with a very limited number of cases reported in the literature. The symptomatology, the time of appearance, the anamnesis and the treatment in the examined cases, differ from patient to patient, making it difficult to make some findings with a scientific substrate. In this review were studied the cases published in the scientific literature, from the first case reported by Finkel L. in 1986, to the most recent cases.

**Key words:** endometriosis; hepatic endometriosis; liver, gallbladder, gallbladder endometriosis

**Introducere.** Endometrioza este o patologie rară, controversată în multe aspecte ale sale, începând cu prima descriere înregistrată și autorul acesteia. S-a ajuns la consensul că pentru prima dată, endometrioza a fost caracterizată în 1860, de către Rokitansky C., drept prezența stromei și glandelor endometriale în afara cavității uterine, iar Sampson JA. și colab. au fost primii care au evocat o teorie de apariție a acestei maladii [1]. Cea mai frecventă localizare este cea pelviană, dar endometrioza poate avea sediul, practic, în orice organ. Etiologia și patofiziologia endometriozei, sunt intens dezbătute până în prezent.

**Generalități.** Endometrioza este definită drept o patologie benignă, cunoscută insuficient și caracterizată prin

implantarea țesutului endometrial în afara cavității uterine, care afectează cca 20% din populația feminină de vârstă reproductivă [2] și cca 2.5% dintre femeile aflate în perioada postmenopauzală, din toate grupele etnice și sociale [3].

Sediul endometriozei poate fi divers, cel mai frecvent, glandele endometriale fiind atestate la nivel pelvian, dar sunt descrise practic în toate organele, cu excepția splinei [4]. Conform datelor publicate de către Streuli I. și colab. [2], leziunile sunt, cel mai des, multiple, și localizarea pelviană este cea mai frecventă, cu implicarea ovarelor (31% drept, 44% stâng), vezicii urinare (36%), Douglas (34%), ligamentului rotund (21% drept, 25% stâng) și ligamentelor uterosacrale (15% drept și 20% stâng) [5]. Cu referire

la localizarea extrapelviană, cel mai frecvent sediu este tractul gastrointestinal. Astfel, localizarea gastrointestinală fiind raportată la cca 3.8% - 37% dintre femeile diagnosticate cu endometrioza, indiferent de vârstă, poate afecta atât femeile aflate în perioada fertilă, cât și pe cele aflate în menopauză și postmenopauză.

Cea mai frecventă localizare a endometriozei gastrointestinale este colonul sigmoid și rectul, urmate de ileon, apendicele vermiform și cec. Cea mai rară localizare a acestui tip de endometrioza este colecistul, diverticulul Meckel, stomacul, ficatul și pancreasul [4].

**Endometrioza hepatică.** Endometrioza hepatică este o adevărată provocare diagnostică pentru medicii clinicieni, din motivul numărului foarte mic de cazuri și studiul insuficient al problemei.

Endometrioza hepatică este o formă de endometrioza pentru prima dată descrisă de către Finkel L. în 1986 [6]. Vom menționa că există divergențe privind numărul de cazuri prezentate în literatura de specialitate. Astfel conform ultimelor date publicate în 2019 de către Rana P. și colab., sunt descrise 29 cazuri de EH [4], iar conform datelor lui Eychenne C. și colab. (iulie 2019) doar 22 [5], comparativ cu datele prezentate de Charatsi D. în 2018 [8], conform cărora sunt doar 21 cazuri. Totuși, în urma studierii resurselor de pe PubMed, Scopus, Google Scholar la această temă, utilizând cuvintele-cheie: "endometriosis", "liver", "hepatic cyst", "hepatic endometriosis", "liver endometriosis" și "hepatic mass", am depistat 44 cazuri de EH descrise în literatura de specialitate până la ora actuală. În majoritatea publicațiilor sunt descrise cazuri unice de EH [4-6, 8-36], cazurile multiple fiind o raritate [37-41]. În tabelul 1 am prezentat cazurile care nu au fost elucidate în cea mai recentă revistă a literaturii referitor la EH.

În prezent există numeroase teorii de apariție și progresare a endometriozei, în special a celei extrapelviană, cu localizare rară, care devine o problemă tot mai actuală. Teoriile de apariție a EH sunt următoarele: menstruația retrogradă, metaplasia celomică, leziunile iatrogene, diseminarea limfatică și hematogenă, reminiscentele ductului Müllerian, sau mai nou: transformarea celulelor stem circulante în celule endometriale și predispunerea genetică. Toate aceste teorii vin, în esență, să se completeze una pe alta, fiindcă nici una dintre ele nu explică în totalitate acest proces complex. Endometrioza constată la femei aflate în perioada postmenopauzală, ca și în cazul perioadei fertile, are aceleași cauze, doar că momentul de apariție poate fi temporat și logic concordat cu schimbările hormonale și scăderea imunității care au loc în această perioadă. Totuși, nu toate teoriile apariției endometriozei extrapelviene explică în totalitate apariția leziunilor de acest tip în organele, situate la distanță de pelvis, sau chiar la bărbați [42]. Teoria regurgitării tubare (teoria Sampson), care e prezentă la cca 90% femei, ar fi valabilă pentru implicarea organelor situate adiacent, mai puțin pentru explicația focarelor la distanță de pelvis,

cum este în cazul endometriozei hepatobiliare. Distribuția prin circulația sangvină sau limfatică explică depistarea endometrioamelor la distanță, în special hepatice intraparenchimotoase, altă explicație nefiind viabilă pentru localizarea profundă a leziunilor. Posibila transportare a particulelor de endometru prin intermediul vaselor, ar fi un proces analog diseminărilor metastatice în leziunile canceroase [43]. Dar această teorie vine să fie combătută de Batt RE. și colab. care relaționează endometrioza hepatică solitară (în absența endometriozei pelviene) cu reminiscentele ductului Müllerian, fapt care explică și absența atestării endometriozei la nivelul splinei [44].

Metaplasia celomică, la fel, rămâne a fi o teorie etiologică aplicabilă în cazul EH, sau biliare, în special, la pacientele la care lipsește istoricul endometriozei și fără alte criterii aplicabile ale etiologiei. Metaplasia celomică poate fi, cel puțin parțial, datorată inflamației cronice, dereglărilor hormonale sau posttraumatică [43]. Este pe larg cunoscut faptul că factorul imun este implicat în procesul de apariție și progresare a endometriozei. În lichidul din cavitatea peritoneală la femeile afectate de endometrioza au fost semnalate nivele crescute de prostaglandine, citokine și interleukine, precum și factori de creștere, doar că nu este elucidat faptul dacă acesta este un element cauzator sau consecință a procesului [45].

Studierea fiziopatologiei endometriozei digestive și hepatobiliare a relevat câteva caracteristici bine motivate ale focarelor endometriotice: predispoziția genetică, dependența de estrogeni, rezistența la progesteron și inflamația [46].

**Vârsta.** Nu există un consens privitor la intervalul de vârstă cel mai afectat de endometrioza extrapelviană, sau și mai restrâns hepatică. În general, endometrioza afectează 10-15% dintre femeile aflate la vârsta reproductivă [47]. În urma studierii și sistematizării datelor colectate din literatura de specialitate, vârsta medie a pacientelor diagnosticate cu EH a constituit  $42,6 \pm 1,8$  ani, vârsta minimă fiind de 21 ani [6] și cea maximă de 73 ani [41]. Cazurile înregistrate la femeile aflate în perioada postmenopauzală rămân a fi mai complexe și dificile, din considerentul că e foarte greu de stabilit tipul leziunii endometriale: *de novo* sau preexistentă, în cazul celor fără anamneză de endometrioza. Din datele disponibile în literatura de specialitate, o serie de paciente au avut în anamneză, fie endometrioza [8,10-12, 14-16, 18, 21-24, 33, 38, 39, 41], fie intervenții ginecologice [4, 19, 20, 36,41]. Însă într-un număr mare de cazuri pacientele nu au prezentat anamneză ginecologică agravată [5, 6, 13, 17, 25-29, 32, 34, 35, 37, 39, 41].

Totuși, tratând endometrioza drept o maladie estrogen dependentă, este clară dezvoltarea acesteia la femeile postmenopauzale, care au fost supuse terapiei de înlocuire cu estrogeni [48]. Este intens discutată legătura dintre indicele masei corporale (IMC) și endometrioza, fiind constatat faptul că IMC mai mare scade riscul de apariție a endometriozei, fapt care este însă dezbătut de unii autori [49].

**Simptome.** În numeroase cazuri, EH rămâne asimptomatică mult timp, iar simptomele care pot fi prezente, nu sunt patognomonice, necesitând un riguros examen clinic-paraclinic și anamneză detaliată. Simptomele apărute la pacientele diagnosticate cu EH, conform literaturii, mimau un spectru vast de patologii, cele mai frecvente simptome, care făceau pacientele să necesite un consult specializat fiind: durere intermitentă sau catamenială în epigastru și/sau flancul drept, fiind prezentă practic în 50% cazuri [5, 8, 9, 13, 16-19, 22-29, 32, 36, 37, 39-41], în câteva cazuri - icter [15, 38], vomă prelungită [4, 31, 33, 36], stare de rău general sau formațiune palpabilă fără alte manifestări [34, 41]. În 9% (4 cazuri) endometriomul hepatic a fost depistat incidental, fiind asimptomatic [5, 11, 12, 34]. Într-un caz, tabloul clinic a fost completat și de elevarea semnificativă a transaminazelor: AST- 485 U/L, ALT – 308 U/L [4].

Unele paciente s-au adresat deja din cauza complicațiilor apărute în urma endometriozei, cum este și exemplul prezentat de către Schuld J. (2011), când pacienta acuză la durere cronică pe flancul drept și tuse cu eliminare de spută bilioasă [25], sau pacienta prezentată cu hemoperitoneu [41]. Durerea catamenială nu a fost înregistrată în cazul acestor paciente.

Apariția și severitatea simptomelor poate fi corelată cu tipul de endometrioză, fiindcă în dependență de localizare, endometrioza este clasată în 3 grupe: endometrioză superficială, focare endometriotice (de obicei vizibile doar în cadrul laparoscopiei) și endometrioza infiltrativă [50].

**Localizare.** Din datele disponibile în literatura de profil, a fost posibil de constatat afectarea mai frecventă a lobului drept de focarele endometriotice [9, 10, 12, 13, 17, 18, 22, 26, 31, 33, 35-40], urmat de lobul stâng [8, 11, 16, 28, 30, 32, 34, 37, 41], bilobar [4, 15, 19, 38], perihepatic – 1 caz [21], pediculul hepatic – 1 caz [5]. Nu este cunoscut faptul dacă este un fapt incidental, sau ar fi posibil de corelat cu teoriile de apariție a endometriozei.

Astfel, în corelație cu teoria de reflux tubar, se poate constata că este afectat lobul drept din motive anatomiche, colonul sigmoid împiedicând refluxul tubar pe stânga [51]. Prezența la nivelul lobului stâng, ar putea fi relaționată cu probabila migrare a celulelor endometriotice prin vasele sangvine și limfatice din cadrul ligamentului ombelical median, de aici, celulele pot ajunge la ficat prin limfaticile sau vasele din jurul ligamentului teres, din cadrul ligamentului falciform, fapt ce explică prezența focarelor de endometrioză în jurul acestui ligament [11].

**Diagnostic.** Se poate concluziona că un rol central în stabilirea diagnosticului de EH aparține anamnezei detaliate, fiind foarte importante datele despre patologii și intervențiile ginecologice suportate.

Simptomatologia diferă și în funcție de dimensiunile formațiunii, iar acestea variază de la foarte mici, până la gigantice, astfel cea mai mică masă tumorală descrisă avea

doar 2,7 cm [39], pe când cea mai mare avea 30 cm [32], și evident că tabloul clinic diferă radical, în dependență de structurile implicate în procesul patologic. Datele imagistice nu sunt suficiente pentru a permite diagnosticarea preoperatorie. Imagistica are o utilitate limitată în diagnosticul endometriozei, mai ales în cazul celei digestive, peritoneale sau hepatobiliare, deoarece nu are rezoluție adecvată pentru identificarea implanturilor peritoneale superficiale.

Ultrasonografia (USG) este ieftină și ușor de efectuat, dar dependentă de specialist; Imagistica prin rezonanță magnetică (IRM) este mai precisă, dar considerabil mai scumpă și laborioasă. Tomografia computerizată (TC) – nu vizualizează bine organele pelviene, nu este utilă în diagnosticul endometriozei extrapelviene, deoarece nu sunt semne certe pentru diagnosticul diferențial al focarelor endometriotice. USG este aplicată în primă intenție și este utilă pentru diagnosticarea leziunilor de dimensiuni mari, iar în cazurile incerte ultrasonografic este necesară utilizarea IRM, în special în cazurile cu localizări digestive sau forma infiltrativă [50]. USG realizată în primă intenție, a fost urmată de TC și IRM, în majoritatea cazurilor concluzia post-examinare fiind chist hepatic septat sau colecție fluidă.

Conform datelor prezentate în literatură, USG s-a efectuat practic în toate cazurile, fiind descrisă o formațiune chistică, septată, foarte des cu conținut fluid [8-12, 19, 20, 23, 29, 30] sau drept o formațiune lobulată [15, 16, 27]. În cazul descris de Jeanes AC și colab. USG a relevat și ascită pronunțată pe lângă cele 2 formațiuni în ambele loburi hepatice, acest fapt fiind interpretat drept metastaze și origine malignă a ascitei [15]. TC a fost realizată în toate cazurile, pentru evaluarea localizării și tipului leziunii, fără însă a da un răspuns referitor la natura leziunii, endometriomele neprezentând criterii tomografice certe, fiind descrise drept formațiune chistică, care a putut fi interpretată și drept abces hepatic [31].

Astfel, după Charatsi D. și colab. (2018) laparoscopia sau laparotomia cu confirmare histopatologică rămân standardul pentru confirmarea endometriozei gastrointestinale [7]. Iar Bourgioti C. și colab. afirmă că laparoscopia este "gold standart" în stabilirea diagnozei de endometrioză [50]. Rezultă că endometrioza rămâne a fi un diagnostic diferențial în cazul pacientelor prezentate cu formațiune hepatică, cu sau fără anamneză ginecologică agravată [17].

Diagnosticarea preoperatorie a endometriozei este o adevărată provocare. În unele cazuri a fost realizată biopsia transcutană care a oferit diagnosticul preoperator de EH [12, 13, 15, 19, 21, 24, 33], fiind o metodă utilă, dar cu limitări în aplicare, în alte cazuri nu a oferit diagnosticul [31, 36]. Fine Needle Aspiration (FNA) a fost realizată în câteva cazuri, în unul fiind neconcludent din cauza prezenței leziunilor hepatice de diferită natură la același pacient, iar în alt caz nu a fost prelevat substratul necesar [4, 16, 31].



Un test de diagnostic noninvasiv pentru endometrioza, al celei digestive inclusiv, ar fi un instrument de detectare precoce la femeile simptomatice sau suspecte. Deși au fost propuși peste 100 de biomarkeri pentru endometrioza, numeroasele studii și analiza acestora au constatat că nici unul nu s-a dovedit în mod constant util clinic [52]. Conform lui Hsu L. și colab.[53] nu există un marker care ar putea fi corelat cu endometrioza, în pofida numeroaselor studii realizate.

O noua posibilitate de diagnostic precoce al endometriozei extrapelviene, și al celei hepato-biliare inclusiv, este biopsia, care relevă un număr crescut de fibre nervoase la nivelul endometrului, fapt care explică și mecanismul bolii cronice persistente la pacientele diagnosticate cu endometrioza. Se presupune că acestea sunt fibre sunt mici primare C senzoriale, nemielinizate. Dar sunt numeroase limitări ale studiilor date, care nu permit aplicarea pe scară largă a acestei metode [53].

Markerii tumorali pot fi utilizați în diagnosticul preoperator al EH, însă nu sunt specifici acestui tip de leziune. În cazurile descrise, sunt prezente date despre elevarea markerului CA-125 [4, 28], CA 15-3 și CA 19-9 [28]. Conform afirmației lui Wykes CB și colab. (2004), jumătate din rezultatele pozitive la laparoscopie vor fi ulterior constatate greșite [54]. Histopatologic, diagnosticarea pozitivă a endometriozei necesită prezența a cel puțin 2 dintre criteriile histologice: epiteliu endometrial, glande endometriale, stromă endometrială sau macrofage cu component de hemosiderină [55].

**Tratament.** Conform Asociației Americane de Endometrioza, tratamentul acestei boli urmărește câteva scopuri bine definite, ce rămân valabile și în cazul endometriozei hepatice: reducerea simptomelor, încetinirea răspândirii și creșterii focarelor endometriotice, păstrarea sau restabilirea fertilității, prevenirea recurențelor.

Urmează a se stabili dacă pacienții asimptomatici trebuie tratați pentru a preveni apariția complicațiilor potențial severe și debilitante, în cazul leziunilor endometriotice ce infiltrază profund în ficat. Deși transformarea malignă a endometriozei este un eveniment rar, cazuri de sarcom și adenocarcinom cauzate de endometrioza ficatului au fost descrise în literatura de profil [13, 34]. Indicațiile pentru intervenție chirurgicală au constituit, în mare parte însăși prezența formațiunii hepatice de etiologie incertă, suspjecția la malignizare [13, 15, 28, 41], suspjecția la hematom posttraumatic [37], chist echinococic [40], complicațiile apărute [25, 28]. Dintre cele mai severe complicații raportate sunt fistula bilio-bronșică cu manifestările clinice respective [25], icterul cauzat de implicarea căilor biliare [27], icterul însoțit de creșterea valorilor bilirubinei, ascita tensionată și tromboza venei porta [38]. În cazurile expuse în literatură, cu excepția a câteva paciente [12, 40], s-a recurs la rezolvarea chirurgicală, în funcție de localizarea și dimensiunile focarului endometriotic. Astfel, au fost realizate diverse tipuri de intervenții: excizia doar a leziunii [9, 11, 15, 21, 27, 29-31, 34, 37-39, 41],

aspirația conținutului chistului, care cantitativ constituia până la 6500 mL [17], segmentectomii [8, 23, 25, 33] sau hemihepatectomii [10, 13, 18, 19, 22, 32, 35, 38]. Unii autori relatează și despre rezecția porțiunii hemidiafragmului adiacent leziunii hepatice, cu plastie ulterioară [13, 18, 21, 28, 36], colecistectomie simultană [10, 16, 37], rezecție pulmonară [25] sau rezecția ventriculului drept [28]. Câteva cazuri de EH au fost rezolvate laparoscopic [4, 29, 31, 34, 39], în unele fiind necesară conversia la laparotomie pentru rezolvarea unei formațiuni în lobul stâng de cca 30 cm [32]. În cazul raportat de Roesch-Dietlen F și colab. (2009) focarul de EH, depistat intraoperator în cadrul colecistectomiei laparoscopice, a fost lasat *in situ*, pacientul urmând doar tratament ulterior cu Danazol [26]. Din datele disponibile, fiindcă acest aspect nu a fost elucidat în toate articolele, recidivă a fost înregistrat într-un număr foarte mic de cazuri.

Este pe larg utilizat tratamentul combinat al EH: tratament chirurgical complementat de tratament hormonal. Tratamentul hormonal poate fi realizat cu: contraceptive orale, progesteron, derivate de testosteron (Danazol) și agoniștii hormonului eliberator al gonadotropinelor (în eng. *Gonadotropin-releasing hormone-GnRH*). Conform ultimului consens al World Endometriosis Society, Danazolul poate fi utilizat, doar în absența reacțiilor adverse, și când tratamentul cu alte preparate nu este eficient. Terapia cu GnRH nu este recomandată drept terapie de lungă durată, pe când progesteronele au demonstrat eficiență în controlul pe termen lung al extinderii leziunilor endometriotice [56]. Din acest considerent este preferată utilizarea contraceptivelor orale combinate, care au o rată r mai mică a reacțiilor adverse și a contraindicațiilor restrânse.

**Morfologie.** Diagnosticul postoperator a fost unul concludent în toate cazurile. Piesa operatorie se prezenta sub forma unui chist cu conținut fluid, sangvinolent, cafeniu, specific endometriozei. Examinarea histologică a fost punctul final în stabilirea certă a diagnosticului de EH, indiferent de tipul histologic detectat.

Caracteristicile citologice specifice endometriozei includ: celule glandulare și stromale cu nuclee uniforme, pe fundalul sângelui modificat, resturi și macrofage, unele dintre ele conținând hemosiderină. Astfel, în unele cazuri, au fost depistate ambele structuri caracteristice leziunilor endometriotice, atât stroma cât și glandele endometriale [8, 9, 16, 17, 23, 29, 30-35, 37, 39, 40, 41], sau doar un singur element, fie glande [11] sau stromă [24, 26]. Imunohistochimia realizată în unele dintre cazurile prezentate a fost pozitivă pentru receptorii de estrogen sau progesteron [16, 24, 27, 30, 31, 36], CD 10 și CK 7 [24, 27, 30, 34-36, 41]. Unele studii recente au demonstrat eficiența utilizării markerului CD10 în diagnosticarea endometriozei. Conform studiului realizat de Sumathi VP și colab., în cazurile diagnostic dubioase, este indicată colorarea imunohistochimică cu acest marker, pentru identificarea stromei endometriale [57].

**Tabelul 2. Caracteristica generală a pacienților diagnosticate cu endometrioza colecistului, publicate în literatura de specialitate**

nr	Autor, anul publicației	Vârsta	Simptome	Imagistica	Dimensiune (mm)	Volumul intervenției
#1	Saadat-Gilani K. et al. (2007) <sup>59</sup>	17	Durere, anemie cronică	CT + IRM	NR	CE
#2	Saldana DG. et al. (2010) <sup>58</sup>	26	Durere, vome, icter	USG + CT	35 x 2.5	CE
#3	Iafrate F. et al. (2013) <sup>60</sup>	55	Durere	USG + CT + IRM	NR	CE

CE - colecistectomie

**Endometrioza veziculei biliare.** Endometrioza colecistului este extrem de rar întâlnită, la momentul actual fiind înregistrate doar 3 raporturi de caz în literatura științifică (Tabelul 2). Din acest motiv, nu se pot face constatări statistice la această temă.

Simptomatologia prezentată de aceste 3 paciente a fost mai severă decât în cazul pacienților cu EH. Tabloul clinic a variat: icter mecanic, vomă și durere [58], precum și durere catamenială și anemie cronică inexplicabilă, atestată la cea mai tânără pacientă, de doar 17 ani [59]. În urma papilosfincterotomiei și extragerii calculilor dincoledoc, icterul s-a rezolvat. Pacienta a fost laparotomizată pentru formațiunile tumorale depistate la nivel pelvian și focarele veziculare intramurale [58]. O altă pacienta de 55 ani s-a adresat la chirurgical plastician pentru o intervenție, dar relatând totodată o durere vagă, catamenială, în hipocondrul drept. Palpativ, s-a depistat o formațiune tumorală la acest nivel. A fost supusă investigațiilor imagistice (USG, CT și IRM), fiind stabilite indicațiile operatorii pentru cancer de veziculă biliară cu metastaze în peretele abdominal anterior [60]. Toate pacientele au fost supuse intervenției chirurgicale: colecistectomie: laparoscopică [59] și prin laparotomie [58, 60]. Specimenele postoperatorii au relevat prezența glandelor endometriale în toate cazurile [58-60].

Un aspect foarte important legat de această patologie este diagnosticul diferențial cu carcinomul veziculei biliare. În acest scop e necesar de a utiliza toate posibilitățile imagistice, care pot sugera diagnosticul de endometrioza colecistului, diagnosticul cert fiind posibil doar postoperator. Astfel, în cazul pacientei cu endometrioza juvenilă, USG s-a repetat la fiecare două zile din a 14-a zi, cu înregistrarea extinderii zonei afectate. În ziua de extensie maximă a fost efectuat IRM, care a sugerat suplimentar diagnosticul de endometrioza colecistului [59]. IRM este una dintre cele mai utile metode noninvazive de diagnostic, pentru că permite vizualizarea atât a nodulilor, cât și a colecțiilor hemactice existente [60].

## CONCLUZII

Deși intens discutată, endometrioza rămâne a fi o patologie complexă cu numeroase semne de întrebare, în special în cazul formelor cu localizare extrem de rară. Etiologia și mecanismul de progresare a acestei patologii, nu sunt elucidate pe deplin, la momentul actual existând câteva teorii capabile să explice apariția endometriozei în

organele aflate la distanță de pelvis, cum ar fi teoria diseminării prin vase sangvine și limfatice, transformarea celulelor stem circulante în celule endometriale sau reminiscentențele ductului Mullerian. În prezent, în literatura de specialitate, am putut constata 44 cazuri de EH și doar 3 cazuri de endometrioza a veziculei biliare. Tabloul clinic diferă de la pacient la pacient, de la unul violent și acut până la descoperirea incidentală a bolii, astfel neexistând un consens în diagnosticarea endometriozei. Drept urmare, endometrioza trebuie considerată un diagnostic diferențial la toate pacientele la care se constată o formațiune la acest nivel, indiferent de vârstă.

## Bibliografie

- Benagiano G, Brosens I. Who identified endometriosis? *Fertil Steril.* 2011;95(1):13-6.
- Streuli I, Gaitzsch H, Wenger JM, Petignat P. Endometriosis after menopause: Physiopathology and management of an uncommon condition. *Climacteric* 2017; 20: 138-143.
- Haas D, Chvatal R, Reichert B, Renner S, Shebl O, Binder H, Wurm P, Oppelt P. Endometriosis: a premenopausal disease? Age pattern in 42,079 patients with endometriosis. *Arch Gynecol Obstet.* 2012;286(3):667-700.
- Rana P, Haghghat S, Han H. Endometrioma of the liver: A case report and review of the literature. *Case Reports Hepatol.* 2019;4734606.
- Eychenne C, Suc B, Delchier MC, Vidal F, Rimailho J, Illac C, Breibach F, Vaysse C, Chantalat E. Hepatic pedicle endometriosis: Case report and review of the literature. *J Obstet Gynaecol Res.* 2019;45(10):2121-2127.
- Finkel L, Marchevsky A, Cohen B. Endometrial cyst of the liver. *Am J Gastroenterol.* 1986;81(7):576-8).
- Charatsi D, Koukoura O, Ntavela IG, Chintziou F, Gkorila G, Tsagkoulis M, Mikos T, Pistofidis G, Hajjiioannou J, Daponte A. Gastrointestinal and urinary tract endometriosis: A review on the commonest locations of extrapelvic endometriosis. *Adv Med.*;2018:3461209.
- Rovati V, Faleschini E, Vercellini P, Nervetti G, Tagliabue G, Benzi G. Endometrioma of the liver. *Am J Obstet Gynecol.* 1990;163(5 Pt 1):1490-2.
- Cravello L, D'Ercole C, Le Treut YP, Blanc B. Hepatic endometriosis: a case report. *Fertil Steril.* 1996;66(4):657-9.

Tabelul 1. Cazuri de EH neelucidate în cea mai recentă revistă a literaturii

Nr.	Autor, anul publicației	Vârsta	Manifestări clinice	Localizare	Imagistică	Mărime (mm)	Volumul intervenției chirurgicale
#1	Cravello L. et al. (1996) <sup>9</sup>	34	durere catamenială	LD	USG + CT	60	Excizia leziunii
#2	Weinfeld RM. et al. (1998) <sup>10</sup>	60	durere	LD și ligament falciiform	CT	31x20	Hepatectomie stângă, colecistectomie
#3	Bohra AK. et al. (2001) <sup>14</sup>	37	durere abdominală	NR	NR	NR	NR
#4	Jeanes AC. et al. (2002) <sup>15</sup>	31	durere, ascită, cașexie, icter	retroperitoneal/LD+LS	USG + CT	120x10	Excizia formațiunii retroperitoneale cu implicarea LD
#5	Koutou Ficht G. et al. (2004) <sup>20</sup>	45	durere sub rebordul costal drept	LD	USG + IRM	170x130x150	Rezecție
#6	Sánchez-Pérez B. et al. (2006) <sup>22</sup>	46	durere în hipocondrul drept	LD	USG + CT	110x90	Hemihepatectomie dreapta
#7	Cantos Pallarés M. et al. (2014) <sup>29</sup>	41	durere pe flancul drept	Seg.V aderent la diafragmă	USG + CT + IRM	48	Rezecție
#8	Hsu M. et al. (2014) <sup>41</sup>	73	durere abdominală și respirație dificilă	Segment VII, extracapsular	USG + CT + IRM	70	Supraveghere
#9		30	durere pe flancul drept și infertilitate	Seg.VIII în capsula Glisson	USG + CT	20	Hepatectomie parțială
#10		41	masă palpabilă	LS	USG + CT	170	Inițial : hepatectomie parțială, cu înlăturarea cca 80% din chist, cu rezecția ulterioară a porțiunii reminiscente
#11		56	durere epigastrică intermitentă mulți ani	LS	NR	90	Lobectomie stângă extinsă
#12		34	durere pe flancul drept	Seg.VI, predominant extracapsular	IRM	65	Înlăturarea formațiunilor
#13	Sopha SC. et al. (2015) <sup>31</sup>	47	diaree de lungă durată, greață, vomă și durere	Segmentul VII	CT	14	Excizia laparoscopică
#14	Mastrangelo L. et al. (2018) <sup>35</sup>	36	durere acută pe flancul drept	LD	CT + IRM	20x30	Hemihepatectomie dreaptă
#15	Eychehen C. et al (2019) <sup>5</sup>	67	asimptomatic	Pedicular	CT + IRM	86	Tratament hormonal

LD- lobul drept, LS-lobul stâng, NR-nu este raportat.

10. Weinfeld RM, Johnson SC, Lucas CE, Saksouk FA. CT diagnosis of perihepatic endometriosis complicated by malignant transformation. *Abdom Imaging*. 1998;23(2):183-4.
11. Chung CC, Liew CT, Hewitt PM, Leung KL, Lau WY. Endometriosis of the liver. *Surgery*. 1998;123(1):106-8.
12. Inal M, Biçakçı K, Soyupak S, Oğuz M, Ozer C, Demirbaş O, Akgül E. Hepatic endometrioma: a case report and review of the literature. *Eur Radiol*. 2000;10(3):431-4.
13. N'Senda P, Wendum D, Balladur P, Dahan H, Tubiana JM, Arrivé L. Adenosarcoma arising in hepatic endometriosis. *Eur Radiol*. 2000;10(8):1287-9.
14. Bohra AK, Diamond T. Endometrioma of the liver. *Int J Clin Pract*. 2001;55(4):286-7.
15. Jeanes AC, Murray D, Davidson B, Hamilton M, Watkinson AF. Case report: hepatic and retroperitoneal endometriosis presenting as obstructive jaundice with ascites: a case report and review of the literature. *Clin Radiol*. 2002;57(3):226-9.
16. Huang WT, Chen WJ, Chen CL, Cheng YF, Wang JH, Eng HL. Endometrial cyst of the liver: a case report and review of the literature. *J Clin Pathol*. 2002;55(9):715-7.
17. Tuech JJ, Rousselet MC, Boyer J, Descamps P, Arnaud JP, Ronceray J. Endometrial cyst of the liver: case report and review. *Fertil Steril*. 2003;79(5):1234-6.
18. Reid GD, Kowalski D, Cooper MJ, Kaloo P. Hepatic endometriosis: a case report and review of the literature. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2003;43(1):87-9.
19. Groves AM, Whitfield R, Lomas DJ, Gibbs P. Imaging of a hepatic endometrioma in a patient with multiple haemangiomas. *J Hepatol*. 2003;38(4):547.
20. Kouto Fichet G, Aubé C, Lebigot J, Pessaux P, Rousselet MC, Caron C. Endometriotic cyst of the liver: a case report. *J Radiol*. 2004;85(2 Pt1):124-7.
21. Jelovsek JE, Winans C, Brainard J, Falcone T. Endometriosis of the liver containing mullerian adenosarcoma: case report. *Am J Obstet Gynecol*. 2004;191(5):1725-7.
22. Sánchez-Pérez B, Santoyo-Santoyo J, Suárez-Muñoz MA, Fernández-Aguilar JL, Aranda-Narváez JM, González-Sánchez A, de la Fuente-Perucho A. Hepatic cystic endometriosis with malignant transformation. *Cir Esp*. 2006;79(5):310-2.
23. Goldsmith PJ, Ahmad N, Dasgupta D, Campbell J, Guthrie JA, Lodge JP. Case hepatic endometriosis: a continuing diagnostic dilemma. *HPB Surg*;2009:407206.
24. Asran M, Rashid A, Szklaruk J. Hepatic endometriosis mimicking metastatic disease: a case report and review of the literature. *J Radiol Case Rep*.2010;4(11):26-31.
25. Schuld J, Justinger C, Wagner M, Bohle RM, Kollmar O, Schilling MK, Richter S. Bronchobiliary fistula: a rare complication of hepatic endometriosis. *Fertil Steril*. 2011;95(2):804.
26. Roesch-Dietlen F, Jiménez-García A, Pérez-Morales A, Grube-Pagola P, Ramírez-Cervantes KL, Remes-Troche JM. Hepatic endometriosis. *Ann Hepatol*. 2011;10(3):347-8.
27. Fluegen G, Jankowiak F, Zacarias Foehrding L, Kroepil F, Knoefel WT, Topp SA. Intrahepatic endometriosis as differential diagnosis: case report and literature review. *World J Gastroenterol*. 2013;19(29):4818-22.
28. Bouras AF, Vincentelli A, Boleslawski E, Truant S, Liddo G, Prat A, Pruvot FR, Zerbib P. Liver endometriosis presenting as a liver mass associated with high blood levels of tumoral biomarkers. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2013;37(3):e85-8.
29. Cantos Pallarés M, López Andújar R, Montalvá Orón EM, Castillo Ferrer MC, Rayón Martín M. Hepatic endometrioma. An update and new approaches. *Cir Esp*. 2014;92(3):212-4.
30. Liu K, Zhang W, Liu S, Dong B, Liu Y. Hepatic endometriosis: a rare case and review of the literature. *Eur J Med Res*. 2015;20:48.
31. Sopha SC, Rosado FG, Smith JJ, Merchant NB, Shi C. Hepatic uterus-like mass misdiagnosed as hepatic abscess. *Int J Surg Pathol*. 2015;23(2):134-9.
32. De Riggi MA, Fusco F, Marino G, Izzo A. Giant endometrial cyst of the liver: a case report and review of the literature. *G Chir*. 2016;37(2):79-83.
33. Sherif AM, Musa ER, Kedar R, Fu L. Subcapsular hepatic endometriosis: case report and review of the literature. *Radiol Case Rep*. 2016;11(4):303-308.
34. Keramidaris D, Gourgiotis S, Koutela A, Mpairamidis E, Oikonomou C, Villias C, Rigas A. Rare case of hepatic endometriosis as an incidental finding: difficult diagnosis of a diagnostic dilemma. *Ann Hepatol*. 2018;17(5):884-887.
35. Mastrangelo L, Masetti M, Grazia De Blasiis M, Orlandi PE, Salerno A, Dario de Biase, Fiorino S, Jovine E, Hepatic endometriosis: Systematic review of literature and a case report. *Global Scientific Research Journal of Surgery*, 1(1), 2018, pp. 1-13.
36. Rivkine E, Jakubowicz D, Marciano L, Polliand C, Poncelet C, Zioli M, Barrat C. Hepatic endometrioma: a case report and review of the literature: report of a case. *Surg Today*. 2013;43(10):1188-93.
37. Verbeke C, Härle M, Sturm J. Cystic endometriosis of the upper abdominal organs. Report on three cases and review of the literature. *Pathol Res Pract*. 1996;192(3):300-4; discussion 305.
38. Khan AW, Craig M, Jarmulowicz M, Davidson BR. Liver tumours due to endometriosis and endometrial stromal sarcoma. *HPB (Oxford)*. 2002;4(1):43-5.
39. Nezhat C, Kazerooni T, Berker B, Lashay N, Fernandez S, Marziali M. Laparoscopic management of hepatic endometriosis: report of two cases and review of the literature. *J Minim Invasive Gynecol*. 2005;12(3):196-200.

40. Hertel JD, Guimaraes M, Yang J. Hepatic endometriosis diagnosed by liquid-based cytology: a case report. *Diagn Cytopathol.* 2014;42(5):441-4.
41. Hsu M, Terris B, Wu TT, Zen Y, Eng HL, Huang WT, Yeh MM. Endometrial cysts within the liver: a rare entity and its differential diagnosis with mucinous cystic neoplasms of the liver. *Hum Pathol.* 2014;45(4):761-7.
42. Jabr FI, Mani V. An unusual cause of abdominal pain in a male patient: Endometriosis. *Avicenna J Med.* 2014;4(4):99-101.
43. Liu K, Zhang W, Liu S, Dong B, Liu Y. Hepatic endometriosis: a rare case and review of the literature. *Eur J Med Res.* 2015;20(1):48.
44. Batt RE, Lele SB, Mitwally MF, Yeh J. Isolated hepatic endometriosis: as rare as hens' teeth, but sometimes you can learn a lot from a hen with teeth. *Fertil Steril.* 2003;80(5):1284; author reply 1284-5.
45. Child TJ, Tan SL. Endometriosis: aetiology, pathogenesis and treatment. *Drugs.* 2001;61(12):1735-50.
46. Burney RO, Giudice LC. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. *Fertil Steril.* 2012;98(3):511-519.
47. Parasar P, Ozcan P, Terry KL. Endometriosis: epidemiology, diagnosis and clinical management. *Curr Obstet Gynecol Rep.* 2017;6(1):34-41.
48. Kitawaki J, Kado N, Ishihara H, Koshihara H, Kitaoka Y, Honjo H. Endometriosis: the pathophysiology as an estrogen-dependent disease. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2002;83(1-5):149-55.
49. Liu Y, Zhang W. Association between body mass index and endometriosis risk: a meta-analysis. *Oncotarget.* 2017;8(29):46928-46936.
50. Bourgioti C, Preza O, Panourgias E, Chatoupis K, Antoniou A, Nikolaidou ME, Mouloupoulos LA. MR imaging of endometriosis: Spectrum of disease. *Diagn Interv Imaging.* 2017;98(11):751-767.
51. Burney RO, Giudice LC. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. *Fertil Steril.* 2012;98(3):511-519.
52. Hickey M, Ballard K, Farquhar C. Endometriosis. *BMJ.* 2014; 19;348:g1752-g1752.
53. Hsu AL, Khachikyan I, Stratton P. Invasive and non-invasive methods for the diagnosis of endometriosis. *Clin Obstet Gynecol.* 2010;53(2):413-419.
54. Wykes CB, Clark TJ, Khan KS. Accuracy of laparoscopy in the diagnosis of endometriosis: a systematic quantitative review. *BJOG* 2004;111(11):1204-1212.
55. Medical Management of Endometriosis. *ACOG Practice Bulletin #11.* 1999.
56. Rolla E. Endometriosis: advances and controversies in classification, pathogenesis, diagnosis, and treatment *F1000Res.* 2019;23;8.
57. Sumathi VP, McCluggage WG. CD10 is useful in demonstrating endometrial stroma at ectopic sites and in confirming a diagnosis of endometriosis. *J Clin Pathol.* 2002;55(5):391-2.
58. Saldaña DG, de Acosta DA, Alemán HP, Gebrehiwot D, Torres E. Gallbladder endometrioma associated with obstructive jaundice and a serous ovarian cystic adenoma. *South Med J.* 2010;103(12):1250-2.
59. Saadat-Gilani K, Bechmann L, Frilling A, Gerken G, Canbay A. Gallbladder endometriosis as a cause of occult bleeding. *World J Gastroenterol.* 2007;13(33):4517-9.
60. Iafrate F, Ciolina M, Iannitti M, Baldassari P, Pichi A, Rengo M, De Cecco CN, Laghi A. Gallbladder and muscular endometriosis: a case report. *Abdom Imaging.* 2013;38(1):120-4.

SILVIA AGOP

## REZULTATELE VACCINĂRII ANTI-HPV ÎN REPUBLICA MOLDOVA

USMF "Nicolae Testemițanu" Departamentul Obstetrică și Ginecologie

### SUMMARY

#### THE RESULTS OF HPV VACCINATION IN THE REPUBLIC OF MOLDOVA

**Key words:** HPV vaccine, preteens, results, Republic of Moldova

**Actuality:** Cervical cancer ranks on second place from all types of cancer in women aged 15-44, according to available data from the International Cancer Research Agency (ICRA). WHO data reports that, at global level, every 2 minutes a woman with cervical cancer dies, each year 528,000 new cases are diagnosed and 266,000 deaths cases are registered. Etiological treatment for HPV infection does not exist. Effective methods in the cervical cancer fight are the primary prevention by HPV vaccination. According to GAVI (Global Alliance for Vaccines and Immunization) HPV vaccine has been introduced in 74 countries. Clinical trials to monitor the duration of vaccine protection have estimated an immunogenicity of up to 8.4 years and an efficacy of up to 9.4 years. Concerning the safety of the vaccine - there is worldwide vaccination experience of over 100 million people who have been given over 280 million doses of HPV vaccine with no PVAE (post-vaccine adverse events) confirmed. Thanks to the WHO support, GAVI, RM benefited from the Gardasil tetravalent vaccine - which is performed free of charge in the vaccination offices of the Family Physicians Centers, starting with December 2017, for girls aged 10 years, in two doses, at 0 and 6 months.

**The aim of the study:** evaluation of vaccination results in the Republic of Moldova.

**Materials and Methods:** A retrospective study over the period 2018-2019 that included 10-year-old girls from all over the country who were subjected to HPV vaccination. The results were extracted from the medical records of the family doctors' centers according to the domicile.

**Results and conclusions:** it were estimated that during the period of January 2018 - December 2019, 11.167 girls were vaccinated, only 46.3% of the quota planned by the IMSP AMP. The study determined the following vaccine coverage in the country: Balti (32.3%), Ciadîr-Lunga (32.8%), Chisinau (43.9%), Cahul (44.3%), Rîșcani (46.6%) and Donduseni (49%). Seven administrative territories have fully used the vaccine stock.

From PVAE (post-vaccine adverse events), only one case was registered in the Orhei district, manifested by panic attack. As a result of the performed research, it was estimated that the HPV vaccination is insufficient (46.3%) and requires a more efficient communication of the persons empowered with the target population and a thorough explanation of the benefits. CC (cervical cancer) is a silent cancer, visible by which the clinical signs usually very late and HPV vaccination - is a useful tool in the fight with it. The autochthonous medical community wants to raise awareness for CC and advocate for effective prevention methods through HPV vaccination, not excluding the screening.

### РЕЗЮМЕ

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ВАКЦИНАЦИИ ANTI-ВПЧ В РЕСПУБЛИКЕ МОЛДОВА

**Ключевые слова:** вакцина анти ВПЧ, результат, Республика Молдова, предпубертатный.

**Актуальность:** Рак шейки матки занимает II место среди всех видов рака у женщин 15-44 лет, согласно данным Международного агентства по изучению рака (МАИР)ю Данные ВОЗ показывают, что в мире каждые 2 минуты одна женщина умирает от рака шейки матки, ежегодно диагностируются 528 000 новых случаев, 266 000 смертей. Этиологического лечения против инфекции ВПЧ не существует. Эффективными рычагами борьбы с раком шейки матки является первичная профилактика путем вакцинации анти-ВПЧ. По данным ГАВИ (Глобальный Альянс по Вакцинации и Имунизации), вакцина анти- ВПЧ был введен в 74 странах. Клинические исследования по контролю предоставленной защиты вакцины выявили иммуногенетичность – до 8,4 лет и эффективность до 9,4 лет. Побочные явления поствакцинации очень редко встречаются. Рассматри-

văie siguranță a vaccinului – există experiența mondială de vaccinare a peste 100 milioane persoane cărora li s-au administrat peste 280 milioane doze de vaccin anti-HPV, nefiind confirmate EAPV cauzate de vaccin. Grație suportului UNICEF, OMS, GAVI, RM a beneficiat de vaccinul Gardasil tetravalent – care se efectuează gratis în cabinetele de vaccinare ale Centrelor Medicilor de Familie din decembrie 2017 pentru fetele cu vârsta de 10 ani, în două doze cu o pauză între prima și a doua vaccinare 6 luni.

**Cealaltă problemă:** evaluarea rezultatelor vaccinării în Republica Moldova.

**Cealaltă problemă:** evaluarea rezultatelor vaccinării în Republica Moldova. Materiale și metode: retrospectivă de cercetare în perioada 2018-2019, incluzând fetele cu vârsta de 10 ani din toată țara, supuse vaccinării anti-HPV. Rezultatele au fost extrase din actele medicale ale centrelor medicilor de familie conform domiciliului. Analiza datelor s-a realizat în baza anchetelor elaborate pentru studiul de față și folosind datele extrase din fișele medicale ale medicilor de familie, cu ajutorul programelor: Statistica 6.0 (Statsoft Inc), EXCEL, EPI-Info 2004 și SPSS 16.0 (SPSS Inc).

**Rezultate și discuții:** Implementarea vaccinului anti-HPV („Gardasil tetravalent”, produs de compania „Merck Sharp & Dohme”) în RM a fost efectuată în data de 07.12.2017 conform ordinului MSMPS nr. 935 din 05.12.2017. Introducerea vaccinului a fost posibilă datorită suportului Alianței Globale pentru Vaccinuri și Imunizări (GAVI) din cadrul programului demonstrațional pentru anii 2017-2018. GAVI a

**Actualitatea:** Cancerul cervical ocupă locul II din toate tipurile de cancer la femei cu vârsta cuprinsă între 15-44 ani, conform datelor disponibile ale Agenției Internaționale de studiu a Cancerului (IRAC). Datele OMS relatează că în lume decedează, la fiecare 2 minute, o femeie de cancer cervical, anual se diagnostichează - 528 000 cazuri noi, 266 000 decese, inclusiv 85% - în țările în curs de dezvoltare. IRAC examinează rata estimativă a mortalității cauzate de cancerul cervical la nivel mondial și către anul 2050 vor fi raportate un milion de cazuri noi, inclusiv 90% - în țările în curs de dezvoltare.

Incidența estimativă a cancerului de col uterin în RM reprezintă 15,6 %, anual se diagnostichează 300 cazuri noi, ceea ce plasează Republica Moldova pe unul din primele locuri printre țările Europei Centrale.

Cancerul de col uterin are etiologie virală. În anul 2008, prof. Harald zur Hausen a primit Premiul Nobel, pentru descoperirea HPV și demonstrarea dezvoltării CC la pacientele infectate cu serotipuri înalt oncogene 16 și 18.

Tratament etiologic pentru infecția cu HPV nu există. Părghii eficiente în lupta cu cancerul cervical reprezintă prevenirea primară prin vaccinare anti-HPV.

Conform datelor GAVI (Alianța globală pentru vaccinuri și imunizare) vaccinul anti- HPV a fost introdus în 74 de țări. Acoperirea cu vaccin împotriva HPV în Regatul Unit al Marii Britanii, aa. 2008-2016 constituie 88% din populația-țintă. Studiile clinice de monitorizare a duratei protecției conferite de vaccin au estimat imunogenitatea – până la 8,4 ani și eficacitatea – până la 9,4 ani și nici un caz de infecție la cei vaccinați – până la 10 ani. Nu există dovezi că eficacitatea ar scădea în timp. Evenimentele adverse postvaccinale (EAPV) sunt rare, riscul de anafilaxie a fost caracterizat ca fiind de aproximativ 1,7 cazuri la un

milion de doze, iar sincopa a fost stabilită ca o anxietate comunitară sau o reacție legată de stres la injectare. În ceea ce privește siguranța vaccinului – există experiența mondială de vaccinare a peste 100 milioane persoane cărora li s-au administrat peste 280 milioane doze de vaccin anti-HPV, nefiind confirmate EAPV cauzate de vaccin. Grație suportului UNICEF, OMS, GAVI, RM a beneficiat de vaccinul Gardasil tetravalent – care se efectuează gratis în cabinetele de vaccinare ale Centrelor Medicilor de Familie din decembrie 2017 pentru fetele cu vârsta de 10 ani, în două doze cu o pauză între prima și a doua vaccinare 6 luni.

**Scopul studiului:** evaluarea rezultatelor vaccinării în Republica Moldova.

**Materiale și metode:** studiu retrospectiv pe parcursul anilor 2018-2019 ce a inclus fetele cu vârsta de 10 ani din toată țara, supuse vaccinării anti-HPV. Rezultatele au fost extrase din actele medicale ale centrelor medicilor de familie conform domiciliului. Analiza datelor s-a realizat în baza anchetelor elaborate pentru studiul de față și folosind datele extrase din fișele medicale ale medicilor de familie, cu ajutorul programelor: Statistica 6.0 (Statsoft Inc), EXCEL, EPI-Info 2004 și SPSS 16.0 (SPSS Inc).

#### Rezultate și discuții:

Implementarea vaccinului anti-HPV („Gardasil tetravalent”, produs de compania „Merck Sharp & Dohme”) în RM a fost efectuată în data de 07.12.2017 conform ordinului MSMPS nr. 935 din 05.12.2017. Introducerea vaccinului a fost posibilă datorită suportului Alianței Globale pentru Vaccinuri și Imunizări (GAVI) din cadrul programului demonstrațional pentru anii 2017-2018. GAVI a

acordat, cu titlu gratuit, 66.200 doze de vaccin anti-HPV pentru Republica Moldova pentru 2 ani, și anume 2017-2018. Aceasta a fost posibilă pentru țara noastră cu condiția de a implementa vaccinul anti-HPV la nivel național din anul 2019, acesta fiind un angajament asumat de către țară. La 07.11.2017 în țară a sosit 34.700 doze de vaccin și 31.500 doze sosite 15.03.2018, precum și seringi auto-destructive, cutii de siguranță pentru cantitatea respectivă de vaccinuri. Cu cantitățile indicate de vaccin urmau a fi vaccinate câte 15 mii fete din 2 cohorte de vârstă.

Rezultatele studiului au arătat că șapte teritorii administrative (Florești, Basarabeasca, Briceni, Cimișlia, Edineț, Nisporeni, Ungheni) au utilizat integral (100%) stocul de vaccin destinat pentru administrarea primei doze. O situație nesatisfăcătoare se atestă în r-nul Vulcănești în care au fost cuprins cu vaccinări doar circa 8% din contingentul planificat, de asemenea în lunile februarie și martie nici o doză nu a fost administrată. Rate scăzute de acoperire vaccinală au fost raportate în municipiile Bălți (32,3%), Ciadîr-Lunga (32,8%), Chișinău (43,9%), Cahul (44,3%), raioanele Râșcani (46,6%) și Dondușeni (49%).

Conform rapoartelor statistice, Formular nr.6 parvenite la nivel național (sursa Agenția Națională pentru Sănătate Publică), la 31.12.2019, cota de vaccinare a fetelor din grupul-țintă cu anul nașterii 2007 a constituit 51,9% (9192 fete), anul nașterii 2008 - 52,3% (9594 fete) și anul nașterii 2009 - 36,0% (6790 fete), rezultatele sunt plasate în tabelul 1.

**Tabelul 1. Nivelul vaccinării conform grupului-țintă (datele Agenției Naționale pentru Sănătate Publică)**

Anul de nastere a grupului- țintă	Număr total	%
2007	9192	51,9%
2008	9594	52,3%
2009	6790	36,0%

Studiul relevă că pe parcursul lunilor ianuarie 2018 - decembrie 2019 au fost cuprinse cu vaccinarea 25.576 fete, ceea ce constituie doar 46,3% din contingentul planificat de IMSP AMP.

În cadrul studiului ne-am propus să investigăm și reacțiile adverse.

În anul 2012, OMS a înlocuit noțiunea de reacție adversă postvaccinare cu EAPV - eveniment advers postvaccinal care reprezintă orice manifestare clinică neașteptată apărută după vaccinare și care nu are numai decât o relație de causalitate cu vaccinul administrat.

Datele arată că s-a atestat doar un caz de EAPV în raionul Orhei, manifestat prin atac de panică, șoc anafilactic, sincope nu au fost înregistrate.

Discutând cu medicii de familie, am încercat să identificăm care sunt cele mai frecvente cauze ale refuzului vaccinării. Printre ele se numără opinia că există pericolul de a se infecta cu HPV, de asemenea, frica de EAPV, informația eronată de posibilele complicații, privind afectarea fertilitatii, riscul autismului la viitoarele generații. Rezultatul cercetării relevă că vaccinarea anti-HPV se realizează insuficient (46,3%), fiind necesară o comunicare mai eficientă a persoanelor abilitate cu populația-țin-

tă și explicarea minuțioasă a beneficiilor. Menționăm că în urma introducerii vaccinării anti-HPV în programul național de imunizări, conform studiului de cost-eficiență realizat la noi în țară, vor putea fi prevenite 98 decese și economisiți anual circa 260 mii de dolari SUA, cheltuieli necesare pentru tratamentul niolor cazuri de cancer ce vor fi prevenite. Beneficiul financiar este net inferior celui social prin care, în jur de 16 mii de fetițe anual, beneficiind de vaccinul Gardasil tetravalent vor fi protejate de tulpini virale cu risc înalt pentru sănătatea lor.

#### Concluzii:

1. Implementarea vaccinului anti-HPV reprezintă pentru Republica Moldova o măsură majoră în prevenirea cancerului de col uterin cauzat de infecția cu Papilomavirus uman și atingerea obiectivelor globale ale dezvoltării durabile.
2. Rezultatele cercetării de față relevă că vaccinarea anti-HPV se realizează insuficient (46,3%) și că e necesară o comunicare mai eficientă a persoanelor abilitate cu populația-țintă pentru a explica beneficiile vaccinării.
3. Cancerul cervical este un cancer silențios, vizibil la care semnele clinice de obicei apar tardiv, iar vaccinarea anti-HPV - reprezintă un instrument util în lupta cu această maladie.
4. Comunitatea medicală autohtonă în comun cu Societatea de Colposcopie și Patologie Cervicală din RM ține să sensibilizeze populația feminină în conștientizarea

problemei cancerului cervical și să pledeze pentru metode eficiente de prevenire prin vaccinare anti-HPV, dar care nu exclud screeningul.

#### Bibliografie

1. Globaca 2012 - Cervical Cancer Estimated Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012, International Agency for Research on Cancer.
2. Arrossi, Temin, Garland et. al., - Primary Prevention of Cervical Cancer: American Society of Clinical Oncology Resource-Stratified Guideline - Journal of Global Oncology martie 2017.
3. Australian Government Department of Health - Immunise Australia Program.
4. National HPV Vaccination Program Register - www.hpvregister.org.au.
5. HPV vaccination coverage in adolescent females in England: 2015-2016, Public Health England.
6. <http://www.who.int/wer> Weekly epidemiological record. Relevé épidémiologique hebdomadaire No 28, 2017, 92, 393-404.
7. [http://www.who.int/vaccine\\_safety/initiative/tools/HPV\\_Vaccine\\_rates\\_information\\_sheet.pdf](http://www.who.int/vaccine_safety/initiative/tools/HPV_Vaccine_rates_information_sheet.pdf).



SILVIA AGOP

## TRATAMENTUL ORGANOMENAJANT LA LĂUZELE CU COMPLICAȚII PUERPERAL-SEPTICE DUPĂ OPERAȚIE CEZARIANĂ

*USMF "Nicolae Testemițanu" Departamentul Obstetrică și Ginecologie*

### РЕЗЮМЕ

#### ОРГАНОСОХРАНЯЮЩЕЕ ЛЕЧЕНИЕ РОДИЛЬНИЦ С ПУРПЕРАЛЬНО-СЕПТИЧЕСКИМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ ПОСЛЕ КЕСАРЕВА СЕЧЕНИЯ

**Ключевые слова:** лечение, органосохраняющая, пuerperально-септическая, осложнения роженицы, кесарево сечение.

**Актуальность:**

Множество исследований в акушерстве и гинекологии, в последние года, направленные на развитие науки показали, что пuerperальная инфекция занимает одну из главных причин в структуре материнской смертности, варьирующая от 5 до 29% по разным литературным источникам. Результаты анализов материнской смертности за последние 5 лет показали, что летальность в септических состояниях высока из-за следующих причин: запоздалое постановление диагноза, неэффективная интенсивная терапия и несвоевременное хирургическое вмешательство.

В последние годы изменилась структура пuerperально-септических осложнений, связанная с ростом частоты операций кесарева сечения, вирулентность и агрессивность микробов, антибиотикорезистентность, что предполагает быстрое постановление диагноза, методы эффективного консервативного лечения и быстрого хирургического вмешательства. Факторы риска усиливаются у беременных из социально-уязвимых групп населения, с плохим питанием и с экстрагенитальной патологией к появлению некоторых осложнений в родах (длительные роды, преждевременный разрыв околоплодных оболочек, многократные влагалищные исследования), некачественная стерилизация, недостатки в операционной технике (ишемические швы, интенсивное повреждение тканей)

Одним из главных факторов риска остается операция кесарева сечения произведенная в срочном порядке, с трудностями при извлечении плода при полном раскрытии шейки матки, которое в последствии может обусловить полное или частичное расхождение рубца на матке.

В последние годы все чаще борются за адаптацию органосохраняющего хирургического лечения, с целью сохранения пораженного органа и в последующем сохранения менструальной и репродуктивной функции у молодых пациенток фертильного возраста.

**Цель работы:** изучение особенностей клинической эволюции, у родильниц с пuerperально-септическими осложнениями после кесарева сечения, диагностированные с частичным расхождением рубца на матке и оптимизация органосохраняющих методов лечения.

**Материалы и методы:** ретроспективная научная работа, проведенная на протяжении 2018-2019 года. Она включает в себя 124 послеродовых женщин с пuerperально-септическими осложнениями после операции кесарево сечения, которые были госпитализированы в Отделение Гнойной Гинекологии из Муниципальной Больницы №1.

**Результаты и заключение:** на основе этой научной работы было выявлено, что из 376 женщин после родов с пuerperально-септическими осложнениями 124 (24,9%) были после операции кесарево сечения. На протяжении беременности имели экстрагенитальную острую патологии с сопутствующими факторами риска.

Изучая осложнения у женщин с пuerperально-септической патологией после операции кесарево сечения удалось выявить что в 14 случаях (19,4%) расхождение рубца на матке, из них с частичным расхождением 8 случаях (6,4%) и в 6 случаях (4,8%) полное расхождение и не удалось сохранить матку.

Результаты исследования показали, что лапароскопия является ранним и уместным методом диагностики, принятия быстрых решений относительно объема операции.

Изучая лапараскопический подход и использование техник трансабдоминального дренирования, в комбинации маточным выскабливанием с установлением внутриматочного дренажирования в случае пелвиоперитонита при частичном расхождении шва на матке у 28 (22,5%) рожениц позволило обеспечить органосберегающее ведение, с сохранением матки.

Благодаря лапароскопии, как раннему методу диагностики, и хирургическому лечению стало возможным сохранение матки ее менструальной и репродуктивной функций.

**Actualitatea:** Numeroasele cercetări în domeniul obstetricii și ginecologiei din ultimele decenii orientate spre dezvoltarea științei medicale au demonstrat că infecția puerperală ocupă în structura mortalității materne unul din primele locuri, cu o incidență ce variază între 5-29%, după diferiți autori.

Statistici importante ale țărilor dezvoltate, cu o asistență medicală de calitate, nu mai înscriu mortalitate maternă prin infecție sau infecția puerperal-septică este pe ultimul loc printre alte patologii. Referințele bibliografice ne permit să menționăm că cercetătorii autohtoni au analizat mortalitatea maternă cauzată de complicațiile puerperal-septice în perioada anilor 1990-1999 și au apreciat o incidență de 12,3% (Roșca P. 2001). Alt studiu, efectuat în 2000-2005, plasează mortalitatea maternă pe locul doi cu tendința de creștere și incidența 18,1% (Friptu V., Metaxa I. 2005). Rezultatele analizei mortalității materne în ultimii 5 ani au constatat că letalitatea în stările septice este mare din următoarele motive: diagnosticul este stabilit cu întârziere, terapia intensivă nu este adecvată și tratamentul chirurgical este efectuat cu întârziere.

În ultimii ani, s-a modificat structura complicațiilor puerperal-septice ca urmare a creșterii incidenței operației cezariene, a virulenței și agresivității microbiene, antibioretistenței, ce impune un diagnostic rapid, metode de tratament conservator eficace și tratament chirurgical prompt.

Factorii de risc se amplifică la gravidele din grupul social vulnerabil, subalimentate cu patologii extragenitală inflamatorie acută (pielonefrite, pneumonii, bronșite, IRVA), prin tergiversarea rezolvării unor complicații în travaliu (travaliu prelungit, ruperea prematură de membrane, tacte vaginale multiple), sterilizări defectuoase și deficiențe de tehnică operatorie (suturi ischemiante, traumatisme tisulare întinse, delabrări).

Unul din cei mai importanți factori de risc rămâne operația cezariană efectuată în mod urgent, cu deficiențe de extracție a fătului în cazul dilatării complete a colului uterin, care ulterior se poate compromite cu dehiscenta parțială sau totală a tranșei pe uter.

În ultimii ani se pledează tot mai larg pentru adoptarea tacticii tratamentului chirurgical organomenajant, având ca scop pastrarea organului afectat și ulterior a funcției menstruale și reproductive la pacientele tinere de vârstă fertilă.

În acest context menționăm că unul din obiectivele glo-

bale ale mileniului reprezintă scăderea nivelului mortalității materne, dar extrem de importantă rămâne a fi și calitatea ulterioară a vieții la pacientele cu complicații puerperal septic.

**Scopul studiului:** constă în studierea particularităților evoluției clinice a complicațiilor puerperal-septice la lăuzele după operație cezariană diagnosticate cu insuficiența parțială a suturilor pe uter, hematom al transei uterine, pelvioperitonită și optimizarea metodelor de tratament.

**Material și metode:** Studiul este de tip retrospectiv și a fost efectuat în perioada 2018-2019, pe un lot de 124 lăuze diagnosticate cu complicații septico-purulente după operația cezariană, internate în secția Ginecologie septică a IMSP SCM nr. 1. Analiza a fost realizată în baza anchetelor elaborate pentru studiul sus-numit și a datelor extrase din fișele medicale, utilizând programele: Statistica 6.0 (Statsoft Inc), EXCEL, EPI-Info 2004 și SPSS 16.0 (SPSS Inc) cu ajutorul funcțiilor și modulelor acestor programe.

**Rezultate și discuții:** Minuțios au fost analizate fișele medicale a 376 lauze internate în secția Ginecologie septică cu complicații puerperal - septice, din ele în 124 (32,9%) cazuri au fost după operație cezariană.

Diagnosticul de patologie septico-purulentă postcezariană a fost stabilit ținând cont de rezultatele examenului clinic febră, dureri

Pronunțate în regiunea hipogastrică cu localizare la nivelul cicatricei postoperatorii, semne peritoneale pozitive, leucoree vaginală purulentă, subinvoluția uterului, examinărilor paraclinice – leucocitoză, devierea formulei leucocitare în stânga și instrumentale – USG cu aprecierea lichidului liber în spațiul Duglas și/sau cavitatea abdominală.

Estimând datele obținute în studiu ce țin de vârsta lăuzelor investigate, am determinat că ele aveau vârsta cuprinsă între 19 și 45 de ani, în medie  $29 \pm 1,2$  ani. Analizând evoluția sarcinii la lăuzele incluse în studiu, am stabilit că în 95% cazuri gravidele s-au aflat în evidența medicului de familie. Conform criteriului paritatea, 62% și 38% multipare.

Incidența complicațiilor puerperal - septice post cezariană a fost studiată în dependență de datele Centrelor perinatologice din republică unde sau concentrat major-

ritatea nașterilor și am estimat următoarele date conform tabelului 1.

aplicarea unui tub pentru derenaj și fixat de colul uterin, în 34(27,4%) cazuri s-a atestat endometrita purulentă,

**Tabelul 1. Incidența complicațiilor postcezariană conform datelor Centrelor de Perinatologie**

IMSP SCM 1	Centrul Mamei și Copilului	Maternitatea nr.2	Raioanele republicii
OC 53(42,7%)	OC 30(24,1%)	OC 7(5,6%)	OC 34(27,4%)

Rezultatul studiului efectuat a estimat, la majoritatea lăuzelor, o anamneză obstetrical-ginecologică agravată: avorturi medicale 82(66,1%) cazuri, avorturi spontane în 54(43,5%) cazuri, operații cezariene în anamneză 28(22,5%), TORCH infecții 24(19,3%). Studiind evoluția sarcinii prezente, am determinat următoarele nosologii: iminență de întrerupere a sarcinii în 86(69,3%) cazuri, pneumonie și IRVA în 44(35,4%) cazuri, stări hipertensive - 10(8,0%) cazuri, anemie feriprivă - 46(37,0%) cazuri, pielonefrita acută în 38(30,6%) cazuri, boala varicoasă a membrelor inferioare - 24(19,3%) cazuri.

Datele arată că operația cezariană în mod urgent s-a efectuat în 90(72,5%) cazuri și la rece în 34 (27,4%)cazuri. Drept indicații pentru operație cezariană au servit: cicatrice pe uter 28 (22,5%) cazuri, hipoxia acută 51(41,1%) cazuri, decolarea placentei normal inserate 5(4,0%) cazuri, placenta praevia 6 (4,8%) cazuri, stări hipertensive 4 (3,2%) cazuri, prezentație incorectă 4 (3,2%) cazuri, patologia extragenitală 2 (1,6%) cazuri, corioamnionita. 12 (9,6%) cazuri, esec de la declansare 12 (9,6%) cazuri. Unul din obiectivele cercetării este studierea particularităților evoluției clinice a complicațiilor puerperal - septic la lăuzele incluse în studiu. Datele obținute privind complicațiile puerperal - septic și incidența lor sunt plasate în tabelul 2.

care s-a condus conservator prin aplicarea terapiei antibacteriene.

La lăuzele după operație cezariană în 26(20,9%) cazuri s-a diagnosticat, supurarea plăgii abdominale, pielonefrita acută în 16(12,9%) cazuri, bronșita acută în 8(6,4%).

Forme severe ale bolii puerperal - septic au fost înregistrate în 12(9,6%) cazuri, repartizându-se după cum urmează: peritonita difuză - 12(9,6%) cazuri, insuficiența totală a suturilor pe uter - 6(4,8%) cazuri și în 10 (8,0%) cazuri - sepsis. Datele literaturii de specialitate evidențiază o incidență de 16% a formelor grave de complicații puerperal-septice. Estimând datele obținute în studiu, este îmbucurător faptul că patologiiile severe puerperal-septice ocupă 9,6% și sunt în diminuare.

În cadrul studiului am evoluat și durata medie de spitalizare. Acest indicator a constituit  $7 \pm 1,2$  zile/pat și el depindea de gravitatea nosologiilor și de evoluția clinică a patologiei.

Conform datelor literaturii de specialitate, spectrul agenților patogeni s-a modificat: predomină infecția mixtă și s-a majorat ponderea infecției virale. Ca rezultat simptomatologia infecției obstetricale este mai complexă, manifestările clinice mai perfile, factorii favorizanți multipli și terenul modificat. Pentru aprecierea agentului patogen au fost prelevate culturi din vagin, plaga postoperatorie,

**Tabelul 2. Clasificarea morbidității complicațiilor puerperal-septice postcezariană la lăuzele incluse în studiu**

Nosologii	Oparație cezariană
1. Sepsis	10 (8,0%)
2. Peritonită difuză	12(9,6%)
3. Pelvioperitonită	18(14,5%)
4. Dehiscenta plăgii pe uter	
- totală	6(4,8%)
- parțială	8(6,4%)
- hematom al plăgii pe uter	2(1,6%)
5. Supurarea plăgii abdominale	26(20,9%)
6. Endometrită post-partum	110(88,7%)
7. Pielonefrită acută	16(12,9%)
8. Pneumonie	15(12,0%)
9. Bronșită acută	8(6,4%)

Studiind minuțios nosologiile lăuzelor cu infecție puerperală, am estimat că endometrita postcezariană s-a depistat în 110 (88,7%) cazuri, retenții placentare s-au apreciat în 90(72,5%) cazuri care s-au rezolvat prin efectuarea chiuretajului uterin cu intubarea uterului prin

cavitatea abdominală cu determinarea următoarelor microorganisme - tabelul 3.

Rezultatele cercetării au relevat că cei mai frecvenți agenți patogeni depistați în cazul complicațiilor puerperal-septice post-partum au fost E. colli și Klebsiela.

**Tabelul. 3 Agenții patogeni determinați în cultura prelevată din cavitatea abdominală la pacientele incluse în studiu**

Agenți patogeni	Operație cezariană
Stafilococ auriu(Gram poz)	13(10,4%)
Stafilococ epidermal	7(5,6%)
Str. hemolitic	1(0,8%)
Str. grup B	2(1,6%)
Enterococ	18(14,5%)
E. colli	54(43,5%)
Ps. aeruginosa	3(2,4%)
Klebsiela	26(20,9%)

Principiile fundamentale ale strategiei curative în cazul complicațiilor puerperal-septice includ utilizarea terapiei antibacteriene, terapiei de dezintoxicare, uterotonice și simptomatice. Studiind tratamentul conservator administrat la lăuzele incluse în studio, am stabilit: terapie de infuzie cu sol. NaCl 0,9% , sol. Glucoză 5% s-a administrat în 102 (82,2%) cazuri, antibiotice în 124(100%) cazuri, tratament antiinflamator - 84 (67,7%) cazuri, uterotonice 118(95,1%) cazuri.

Antibioterapia prevede administrarea preparatelor cu spectru larg de acțiune (peniciline, cefalosporine, aminoglicozide), combinate cu preparate antianaerobe (metronidazol), reieșind din etiologia mixtă a infecției cu asociere de aerobi/anaerobi. Schemele combinate de antibiotice pot fi modificate în dependență de rezultatele antibiogrammei. Preparatele uterotonice au efect benefic asupra uterului – locul cu rezistență minoră în cazul complicațiilor puerperal-septice post-partum.

Rezultatele cercetării au evidențiat la lăuzele cu complicații puerperal-septice postcezariană următoarele intervenții chirurgicale - tabelul 4.

paciente. În 6(4,8%) cazuri prin laparoscopie s-a diagnosticat dehiscenta totală cu formare de abces al plăgii pe uter și s-a recurs la extirpația de organ. De asemenea, s-au depistat 2 (1,6%) cazuri de hematom al plăgii pe uter și s-a efectuat prelucrarea chirurgicală prin deschiderea și drenarea hematomului și s-a reușit de conservat uterul. În 2 (1,6%) cazuri s-a depistat apendicita acută flegmonoasă și s-a recurs la apendicectomie.

Studiind intervențiile chirurgicale am stabilit că în 90 (72,5%) cazuri, s-au efectuat chiuretaje uterine pentru endometrite pe fond de retenții placentare și/sau lohio-metră. De asemenea s-a efectuat prelucrarea chirurgicală al plăgii abdominale în cazul stabilirii diagnosticului de supurare și /sau abces al plăgii postoperatorii în 26 (20,9%) cazuri, totodată suturi secundare s-au aplicat în 20(16,1%) cazuri.

Tratamentul chirurgical endoscopic a servit ca metodă de diagnostic precoce și oportun, fapt ce a permis acțiuni și decizii prompte referitor la volumul intervenției chirurgicale.

**Tabelul 4. Clasificarea intervențiilor chirurgicale efectuate lăuzelor incluse în studiu**

Intervenții chirurgicale	Operație cezariană
Laparotomie cu extirparea uterului	12(9,6%)
Laparoscopii curativ-diagnostice	28(22,5%)
Chiuretaje uterine	90(72,5%)
Prelucrarea chirurgicală a plăgii postoperatorii	26(20,9%)
Aplicarea suturilor secundare	20(16,1%)

Tratamentul chirurgical efectuat a inclus abord laparotomic cu extirpația uterului în 12(9,6%) cazuri cu peritonită difuză și sepsis postcezariană.

Un loc aparte deține abordul laparoscopic, efectuat în 36(29,0%) cazuri, din ele în 18 (14,5%) cazuri s-a diagnosticat endometrită post cezariană complicată cu pelvioperitonită. Dehiscenta tranșei pe uter a fost parțială în 8 (6,4%) și a permis volumul intervenției prin drenare și lavaj al cavității abdominale, asociat cu chiuretaj uterin, eliminarea parțială a suturilor infectate și plasarea unui tub de dren în cavitatea uterină. Ca rezultat, a fost posibilă păstrarea uterului la aceste

Rezultatele tratamentului chirurgical prin abord laparoscopic sunt relatate în tabelul 5.

Abordul laparoscopic cu drenaj transcutanat, asociat cu chiuretaj uterin și cu aplicarea de drenaj uterin, a permis conduita organomenajantă, cu păstrarea uterului la 28 (22,5%) din lăuzele cu complicații puerperal - septice postcezariană.

Tratamentul organomenajant aplicat a permis păstrarea funcției menstruale și reproductive la aceste paciente.

Conduita postoperatorie la lăuzele incluse în studiu cu plaga uterină compromisă a necesitat supraveghere și vigilență sporită, pentru a preveni dezvoltarea compli-

**Tabelul 5. Abordul endoscopic (diagnostic și tratament) la lăuzele incluse în studiu**

Abord laparoscopic	Organomenajant	Histerectomie
Peritonită difuză	-	2 (1,6%)
Pelvioperitonită	18(14,5%)	-
Insuficiența suturilor pe uter		
- totală	-	6(4,8%)
- parțială	8(6,4%)	-
- hematumul plăgii pe uter	2(1,6%)	-

cațiilor, iar în caz de agravare sau evoluție stagnată s-a efectuat tratament chirurgical rapid și calitativ.

#### Concluzii:

1. Datele obținute în studiu de față denotă că la 73% din lăuzele anchetate sarcina a decurs pe fond de anamneză obstetrical-ginecologică complicată, de patologie extragenitală inflamatorie acută (pielonefrită, pneumonii, IRVA), precum și asocierea multiplilor factori de risc care explică apariția complicațiilor puerperal-septice la acest contingent de paciente.
2. Tratamentul chirurgical endoscopic a servit ca metodă de diagnostic precoce și oportun facilitând acțiuni și luarea de decizii prompte referitor la volumul intervenției chirurgicale în cazul a 36(29,0%) de lăuze cu complicații puerperal-septice post-cezariană.
3. Abordul laparoscopic și utilizarea tehnicii de drenaj transabdominal combinat cu chiuretaj uterin și eliminarea parțială a tranșei uterine infectate cu plasarea de drenaj uterin, în cazul uterului compromis la 28 (22,5%) lăuze, a permis conduita organomenajantă, cu păstrarea organului.
4. Menționează că, în ultimii ani, a scăzut incidența complicațiilor puerperal-septice, mai rar se întâlnesc forme grave, iar datorită unui diagnostic precoce, prin utilizarea metodei laparoscopice, a devenit posibil tratamentul chirurgical cu păstrarea uterului, a funcției menstruale și reproductive la aceste paciente.

#### Bibliografie

1. Cernetchi O., Cojocaru V., Sârbu Z., Ostrofeț C., Agop S., Sagaidac I. ș. a., Sepsisul și șocul septic în obstetrică și ginecologie, Protocol Clinic Național, Chișinău, 2016, 25p.
2. Cernetchi O., Sârbu Z., Sepsisul în obstetrică și ginecologie. Monografie. Chișinău., 2014, 126 p.
3. Friptu V., Metaxa I., Cernetchi O., ș. a., Afecțiunile purulento-septice în obstetrică. Chișinău 2005, 376 p.
4. Luca V., Editoriale. Sinteze. Idei. Brașov, 2008, 238 p.
5. Daraselia M., Particularitățile evoluției clinice și structura formelor celulare sangvine în sepsisul obstetrical-ginecologic. Autoreferat., Bacu 2007, 20 p.
6. Niconov A., Anchirsaia A., Abordări noi în tratamentul endometritei post-partum., Obstetrică și Ginecologie, Moscova 1999, 35-38p.
7. Hatabe M., Tabloul clinic-ecografic al endometritei după operație cezariană. Diagnosticul și conduita., Autoreferat. Moscova 1994, 21p.
8. Gladun E., Ețco L., Poclitaru M., ș. a. Operația cezariană în obstetrica contemporană. Monografie. Chișinău 2007, 223p.
9. Luca V. Infecția puerperală., 1994, 267p.
10. Bone M. et. al., Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/CCM Consensus Conference Committee. American College of Chest of Physicians/ Society of Critical Care Medicine. 1992, (Pub. Med).

HRISTIANA CAPROS

## RESTRICȚIA DE CREȘTERE FETALĂ. ACTUALITĂȚI DE DIAGNOSTIC

*USMF "Nicolae Testemițanu", Departamentul de Obstetrica și ginecologie.*

### SUMMARY

#### FETAL GROWTH RESTRICTION. TRENDS IN DIAGNOSTIC

**Introduction:** Intrauterine growth restriction is an important public health problem in both developing and industrially developed countries. Diagnosis and management of fetal growth restriction cases remain a challenge of the current obstetrics due to variable diagnostic criteria, non-standardized monitoring methods, the absence of therapeutic solutions, the different impact that different risk factors have on each gestational age. The major challenge in these cases consists in differentiating the growth restricted fetus (affected) from a constitutionally (genetically) small, choosing the time of birth with the best predictable neonatal prognosis.

**Purpose:** to present a literature review on the topic of intrauterine growth restriction based on last-minute international protocols.

**Methods and materials:** research in international databases by applying in the MedLine search systems, Web of Science Key words - fetal intrauterine growth restriction, fetal retardation, 10th percentile, fetal growth charts.

**Results:** taking into consideration the high perinatal morbidity and mortality caused by the fetal growth restriction the international obstetric society through the protocols ISUOG, RCOG, ACOG, CNGOF, NZMFMN, MRCPI, SOGC comes with a series of recommendations that would allow the diagnosis of fetal growth restriction and the optimal management of these cases.

These changes start from the substitution of term the intrauterine growth retardation by the term fetal growth restriction, continue with the proposal to change the classification of fetal intrauterine growth restriction, to perform the prophylaxis of vascular complications in pregnancy by aspirin administration, and result in the unanimous acceptance of the Delphi criteria for establishing the diagnosis of fetal growth restriction.

**Key words:** fetal intrauterine growth restriction, fetal retardation, 10th percentile, fetal growth curves, guidelines.

### РЕЗЮМЕ

#### ОГРАНИЧЕНИЕ ВНУТРИУТРОБНОГО РОСТА. ТЕНДЕНЦИИ В ДИАГНОСТИКЕ

**Введение:** Ограничение внутриутробного роста является важной проблемой общественного здравоохранения как в развивающихся, так и в промышленно развитых странах. Диагностика и ведение случаев ограничения роста плода остается проблемой современного акушерства из-за отсутствия четких диагностических критериев, нестандартизированных методов мониторинга, отсутствия терапевтических решений, влияния различных факторов риска в каждом гестационном возрасте. Основная проблема в этих случаях состоит в дифференциации плода с ограничением роста (пораженного) от конституционально (генетически) маленького.

**Цель:** представить обзор литературы по теме диагностики ограничения внутриутробного роста на основе последних международных протоколов.

**Методы и материалы:** исследования в международных базах данных с использованием поисковых систем MedLine, PubMed, Wiley online library, Cochrane Database.

**Результаты:** принимая во внимание высокую перинатальную заболеваемость и смертность вызванные ограничением роста плода, международным акушерским обществом в протоколах ISUOG, RCOG, ACOG, CNGOF, NZMFMN, MRCPI, SOGC предлагается ряд рекомендаций которые позволят обеспечить оптимальное ведение случаев с ограничением внутриутробного роста.

Эти изменения начинаются с замены термина «задержка внутриутробного развития» термином «ограничение роста плода», продолжаются предложением изменить классификацию ограничения внутриутробного развития плода, к принятию критериев Delphi для установления диагноза ограничения роста плода.

**Ключевые слова:** Задержка внутриутробного развития плода, внутриутробное ограничение роста плода, 10-й процентиль, карты роста плода.

**Introducere:**

Restricția de creștere intrauterină reprezintă o problemă importantă de sănătate publică atât în țările în curs de dezvoltare, cât și în cele industrial dezvoltate. Pentru obstetricieni restricția de creștere fetală înseamnă o patologie un risc important pentru prematuritate iatrogenă, detresă fetală, neurodezvoltare afectată, paralizie cerebrală și moarte perinatală [ 5, 17]. De fapt înseamnă o patologie cu punerea în discuție a vieții fătului sau nou-născutului. Restricția de creștere fetală poate duce la complicații semnificative obstetricale dar și consecințe neonatale, atât pe termen scurt, cât și pe termen lung [3, 4]. Creșterea fetală sub optimă este asociată în literatura de specialitate cu dereglări hematologice, metabolice, afectarea termoreglării, hemoragia intraventriculară, enterocolita necrozantă, convulsii, sepsis, sindrom de detresă respiratorie, retinopatie de prematuritate, moartea neonatală [20]. S-a constatat că în cazul când diagnosticul restricției de creștere este stabilit corect și la timp și nașterea se efectuează la momentul oportun se poate obține o reducere de 4-5 ori a mortalității și / sau a morbidității severe [7, 26]. Împreună cu impactul profund perinatal, consecințele pot continua în viața adultă sub formă de boală metabolică ca urmare a reprogramării prenatale și creșterii postnatale compensatorii. În prezent este bine stabilit că copiii născuți cu restricție de creștere intrauterină au performanțe școlare mai slabe și rate de dezvoltare neurocomportamentală mai scăzute [18]. Adulții, ce au suportat în viața intrauterină restricție de creștere, au risc sporit pentru a dezvolta sindrom metabolic, hipertensiune, suferă mai des de diabet zaharat de tip 2, de boala coronariană, accidente vasculare cerebrale [4, 16]. Opțiuni terapeutice în restricția de creștere fetală nu există, unică modalitate de soluționare a cazului fiind terminarea sarcinii. Astfel, a nu diagnostica un făt afectat intrauterin înseamnă a pune în pericol prognosticul său vital. În schimb, a eticheta un făt normal din greșeală ca fiind cu restricție de creștere intrauterină înseamnă să-l expui la intervenții inutile [15]. Diagnosticul și managementul cazurilor de restricție de creștere fetală rămân o provocare a obstetricii moderne din cauza criteriilor de diagnostic variabile, metodelor de monitorizare nestandardizate, a absenței soluțiilor terapeutice, impactului diferit pe care îl au diverși factori de risc la fiecare vârstă gestațională [34]. Provocarea majoră în cazurile de restricție de creștere fetală constă în alegerea momentului nașterii cu cel mai bun prognostic neonatal previzibil [7].

**Scopul:** analiza literaturii pe tema diagnosticul restricției de creștere intrauterină în baza protocoalelor internaționale de ultimă oră.

**Materiale și metode:** Sa efectuat cercetarea în baza de date internaționale prin aplicarea în sistemele de căutare MedLine, Web of Science, Wiley online library, Cochrane Database a cuvintelor cheie - restricție de creștere in-

trauterină fetală, retard fetal, percentilă 10, curbe de creștere fetală, protocol. Au fost căutate publicațiile relevante, protocoale naționale, internaționale în limba engleză, franceză, rusă, romană apărute în anii 2013-2019.

**Rezultate:** Având în vedere morbiditatea și mortalitatea perinatală înalte provocate de restricția de creștere fetală societatea obstetricală internațională, prin protocoalele ISUOG, RCOG, ACOG, CNGOF, NZMFMN, MRCPI, SOGC vine cu un șir de recomandări care ar permite depistarea precoce a gravidelor cu risc de a dezvolta restricție de creștere fetală și soluționarea optimă a acestor cazuri.

Aceste modificări sunt:

1. Utilizarea aplicației în formatul Xcel care permite elaborarea diagramelor de creștere fetale în baza greutateii medii fetale din populația studiată;
2. Înlocuirea termenului “retard de dezvoltare intrauterină” prin termenul “restricție de creștere intrauterină”;
3. Înlocuirea clasificării vechi a retardului de creștere intrauterină a fătului prin clasificarea nouă, mai bine adaptată la evoluția clinică a patologiei;
4. Utilizarea criteriilor Delphi pentru diagnosticul restricției de creștere fetală.

**Diagrame de creștere fetală.**

Diagramele de creștere fetală constau din grafice cu axele x și y ce redau o serie de curbe în care rezultatele sunt exprimate în percentile. Inițial aceste diagrame au fost folosite de către medicii pediatri pentru a urmări creșterea sugarilor, copiilor și adolescenților. Pentru prima dată au fost aplicate în Statele Unite, în 1977, fiind trasate prin observarea creșterii unui număr mare de copii normali de-a lungul timpului. Aceste diagrame mai apoi au fost preluate în practica obstetricală și ultrasonografică pentru prezicerea creșterii fetale.

Valorile perimetru abdominal, perimetrului cranian, diametrului biparietal, lungimii femurului, greutateii unui făt pot fi comparate cu parametrii așteptați ai fetoșilor de aceeași vârstă și sex pentru a determina dacă fătul în cauză crește corespunzător [25]. Diagramele de creștere fetală pot fi de asemenea folosite pentru a prezice greutatea preconizată la o anumită vârstă gestațională, deoarece, în general, fetoșii mențin o curbă de creștere destul de constantă (fig.2).

Atunci când un făt se abate de la curbă de creștere stabilită anterior, există un factor ce limitează (restricționează) creșterea corectă a acestui făt cu toate consecințele neprevăzute. Există controverse considerabile în ceea ce privește ce diagrame ar trebui utilizate pentru aprecierea creșterii fetale, și care standard populațional este mai potrivit pentru comparații internaționale [6, 27]. La momentul actual sunt diagrame bazate pe standarde personalizate, populaționale, sau etnic specifice deoarece studiile au arătat că există o variație semnificativă a creșterii fetale între țări [9, 12]. De asemenea, creșterea fetală este influențată de vârsta maternă, înălțimea, greutatea, paritatea și sexul

### Weight percentiles calculator

- In order to obtain local percentiles, enter in the yellow field below the mean birthweight at 40 weeks observed in your sample. For determining the mean birthweight use at least 100 deliveries at 40 weeks (40+0 to 40+6) and with no risk factors for having small for gestational age infants.
- Optionally, enter the standard deviation of your sample's mean birthweight in the light green field below.

Mean birthweight at 40 weeks =

Standard deviation of birthweight, expressed as a percentage of mean birthweight\*

Weight percentiles for the local population											
Gestational age	99th	97th	95th	90th	75th	mean	25th	10th	5th	3rd	1st
24	820	786	768	741	695	644	593	547	520	502	488
25	957	918	897	865	812	752	692	639	607	586	547
26	1110	1064	1040	1003	941	872	803	741	703	679	634
27	1278	1225	1198	1155	1083	1004	924	853	810	782	730
28	1461	1401	1369	1320	1238	1147	1057	975	926	894	834
29	1658	1590	1554	1498	1405	1302	1199	1108	1021	1015	947
30	1869	1792	1751	1689	1584	1469	1352	1247	1184	1144	1067
31	2091	2005	1960	1890	1773	1643	1513	1395	1325	1280	1194
32	2324	2228	2178	2100	1970	1825	1681	1551	1473	1422	1327
33	2564	2459	2403	2317	2173	2014	1854	1711	1625	1569	1464
34	2809	2694	2632	2538	2381	2206	2032	1874	1780	1719	1604
35	3056	2930	2864	2761	2590	2400	2210	2039	1937	1870	1745
36	3301	3165	3093	2983	2798	2593	2387	2203	2092	2020	1885
37	3540	3395	3318	3199	3001	2781	2561	2362	2244	2167	2021
38	3770	3615	3533	3407	3196	2961	2727	2516	2390	2308	2153
39	3987	3823	3736	3603	3380	3132	2884	2660	2527	2440	2276
40	4186	4014	3923	3783	3549	3288	3028	2794	2653	2562	2390
41	4365	4185	4090	3944	3700	3428	3157	2913	2766	2671	2492

Local Parameters

1: 0,887

2: 0,117

Z-Scores for percentiles of normal distribution

25 -0,674

10 -1,282

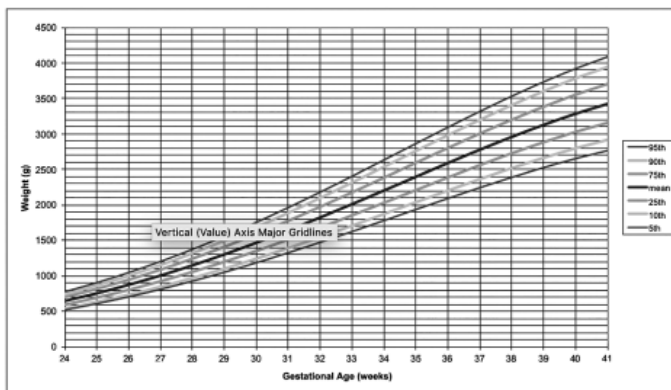


Fig. 1. Diagramă de creștere fetală normală generată în baza aplicației OMS și a populației fetale cu masă medie de 3288 g.



Fig. 2. Diagramă de creștere fetală normală generată în baza aplicației OMS și a populației fetale cu masă medie de 3288 g. Se observă creștere fetală constantă cu masă fetală estimată la percentila 20 la 32 sa. și la percentila 20 la 34 sa.

fetal. Din aceste considerente, aplicarea diagramelor personalizate ar permite minimizarea cazurilor de hiperdiagnostic și evidențierea precoce a cazurilor cu restricție de creștere intrauterină. Producerea diagramelor personalizate a fost dezvoltată de către Gardosi și aplicațiile produse de echipa Gardosi și colab. ele sunt disponibile online prin acces contra cost [8]. OMS, în publicațiile sale recente, oferă gratuit aplicația virtuală care ar permite producerea diagramelor biometrice fetale populaționale pentru estimarea creșterii fetale și astfel de diagrame ar putea fi utilizate și în Republica Moldova, care nu dispune deocamdată de diagrame etnice proprii [25, 36].

**Terminologie și noțiuni.** Până nu demult în literatură de specialitate găseam mai mulți termeni și definiții confuze și controversate legate de restricția de creștere fetală.

Nu există o definiție universal acceptată a restricției de creștere intrauterină și majoritatea statisticilor includeau termeni „retard de creștere intrauterină” „mic pentru vârsta gestațională”, „greutate mică la naștere”, „greutate foarte mică la naștere” [24, 28].

Un alt moment de subliniat este prezența distincțiilor între termenii folosiți de medicii obstetricieni și cei folosiți de medicii pediatri. Pentru medicii pediatri cât este mai mică masă copilului la naștere cu atât morbiditatea și mortalitatea sunt mai mari, termenul folosit în literatură de specialitate pediatrică fiind „copil cu greutate mică la naștere”.

Protocoloale recente pentru descrierea parametrilor biometrice fetale recomandă termenii: restricție de creștere fetală și mic pentru vârstă gestațională. În general, mic pentru vârsta gestațională este definită ca o masă la naștere



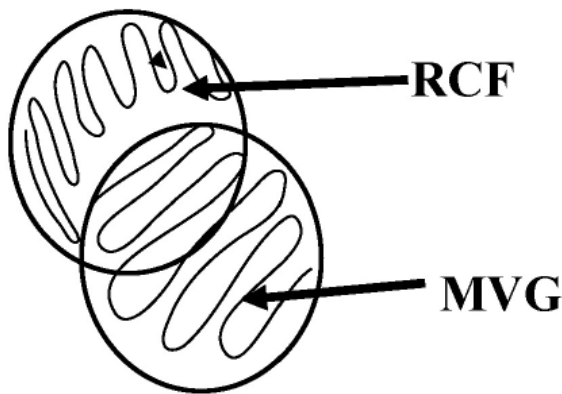
sub o anumită limită, în comparație cu o curbă de referință bazată pe populație, în timp ce restricția de creștere intrauterină este definită ca o nerealizare a potențialului de creștere genetică și implică întotdeauna o creștere patologică [11, 22].

Astfel, se propun următoarele definiții:

Făt mic pentru vârsta gestațională- este fătul a cărui masă estimată sau/ și circumferința abdominală se situează pe curbele populaționale de creștere sub percentila 10.

Restricție de creștere intrauterină fetală- este fătul care nu a atins potențialul (genetic) de creștere din cauza unuia sau mai multor factori determinanți.

Fetușii mici pentru vârsta gestațională reprezintă un grup heterogen ce include fetuși care nu au reușit să-și realizeze potențialul de creștere și fetuși care sunt mici din punct de vedere constituțional (genetic).



**Fig. 3. Reprezentarea schematică a raportului dintre populația fetușilor mici pentru vârsta gestațională și populația fetușilor cu restricție de creștere fetală.**

MVG - făt mic pentru vârsta gestațională, RCF - făt cu restricție de creștere.

Aproximativ 50-70% din fetușii cu o greutate la naștere inferioară percentilei a zecea pentru vârsta de gestație sunt mici constituțional, vor avea un rezultat perinatalogic normal, nu necesită nici un tip de intervenție obstetricală. Riscul de complicații obstetricale și neonatale este proporțional cu gradul de restricție a creșterii fetale. Cu cât este mai inferioară percentila ce definește un făt mic pentru vârsta gestațională, cu atât mai înaltă este probabilitatea restricției de creștere fetale [37]. Astfel nou-născuții cu circumferința abdominală și/sau a masa probabilă egală sau mai mici de percentila 3 și / sau Doppler patologic al arterei ombilicale au cel mai mare risc de morbiditate sau mortalitate perinatală. Pe de altă parte, un făt cu restricție de creștere fetală poate să nu fie mic pentru vârsta gestațională, și atunci unică metodă de diagnostic al acestora ar fi supravegherea în evoluție ( în interval minim de 14 zile) a parametrilor biometrici fetalii. Pentru diagnosticul acestora este necesară utilizarea diagramelor de creștere fetală cu expresia rezultatelor biometrice în percentile și nu în săptămâni de sarcină [6].

### **Criterii diagnostice în restricția de creștere fetală.**

Metodă de screening unanim acceptată pentru depistarea restricției de creștere fetale a fost măsurarea înălțimii fundului uterin, însă în ceea ce privește diagnosticul acestei patologii nu există un standard de aur. Pentru diagnosticul restricției de creștere au fost propuse atât teste biometrice cât și teste biofizice. Există mai multe metode pentru a distinge restricția de creștere fetală în populația fetușilor mici pentru vârsta gestațională. Acestea includ examenul ultrasonographic repetat pentru a urmări viteza de creștere fetală, evaluarea parametrilor funcționali fetalii- Doppler vascular fetal, cantitatea de lichid amniotic, biomarkerii serici [38]. Evaluarea parametrilor: perimetrul abdominal, perimetrul cranian, diametrul biparietal, lungimea femurului, masa fetală sunt biometrice, iar Dopplerul vascular fetal sunt teste funcționale [19]. Atât din perspectiva clinică, cât și din punct de vedere științific, prezența unei definiții clare care ar diferenția fetușii cu restricție de creștere de cei constituțional mici va contribui la identificarea precoce a sarcinilor cu risc, diagnosticul corect al restricției de creștere fetale, managementul optim a acestor cazuri, dar și ar facilita dialogul științific internațional privind compararea diferitor studii cu restricție de creștere fetală și susținerea viitoarelor proiecte de cercetare. Acest consens a fost atins prin procedura Delphi, în anul 2016. Conform acestei proceduri, s-a ajuns la o definiție consensuală a restricției de creștere fetală. În ambele cazuri- restricție de creștere fetală cu debut precoce și restricție de creștere fetală cu debut tardiv au fost nominalizați parametrii solitari și parametrii contributivi [10]. Pentru a utiliza aceste criterii în practică cotidiană este necesar de respectat câteva momente:

1. Aprecierea corectă a termenului de gestație prin luarea în calcul a datei ultimei menstruații și a rezultatelor ultrasonografiei din primul trimestru de sarcină;
2. Având în vedere asocierea restricției de creștere fetale cu sindroame genetice, aneuploidia și infecția intrauterină este indicată o evaluare atentă și detaliată a anatomiei fetale;
3. Rezultatele examenului ultrasonografic trebuie să conțină date despre prezența/absența anomaliilor structurale fetale, a markerilor pentru patologie genetică, despre anomalia cromozomială, polihidramnios, markeri pentru infecția intrauterină;
4. În caz de suspjecție a restricției de creștere de cauză cromozomială pacienta va fi consultată în vederea efectuării cfDNA/amniocentezei; în suspjecție de cauză infecțioasă- teste serologice TORCH [32].

Diagnosticul de restricție de creștere fetală este stabilit atunci când este prezent un criteriu solitar, sau doi sau mai mulți parametri contributivi. Astfel în calitate de parametri solitari s-au selectat masă fetală estimată sau circumferința abdominală mai mică de percentila 3 pe diagrame populaționale, creșterea statică, Doppler nul sau reverse-flow pe arteră ombilicală fetală; în calitate de parametri contributivi este considerată masă fetală estimată sau circumferința abdominală mai mică de percentila 10, Doppler patologic pe arterele uterine, Doppler patologic

pe arteră ombilicală, raportul cerebro-placentar patologic (Tabel 1) [30].

zează prin dezvoltarea neuniformă a diferitelor organe și sisteme, în special pe baza afectării mai severe a segmen-

**Tabel 1. Diagnosticul restricției de creștere fetală ( Delphi consens).**

RCF cu debut precoce < 32sa, în absența anomaliilor congenitale	RCF cu debut tardiv > 32sa, în absența anomaliilor congenitale
1. MFE/CĂ < 3P sau flux diastolic nul pe arteră ombilicală)	1. MFE/CĂ < 3P
2. MFE/CĂ < 10P combinat cu AUtPI> 95P și/sau AO PI> 95P	sau 2 din 3 MFE/CĂ < 10P MFE/CĂ în diminuare cu 2 quartile RCP < 5P sau AO PI>95P

RCF - restricție de creștere fetală, MFE - masă fetală estimată ultrasonografic, CĂ- circumferința abdominală, P - percentila, AUt - arterele uterine, AO - arteră ombilicală, PI - indice de pulsilitate, RCP- raport cerebro placentar.

4. Clasificarea restricției de creștere fetală.

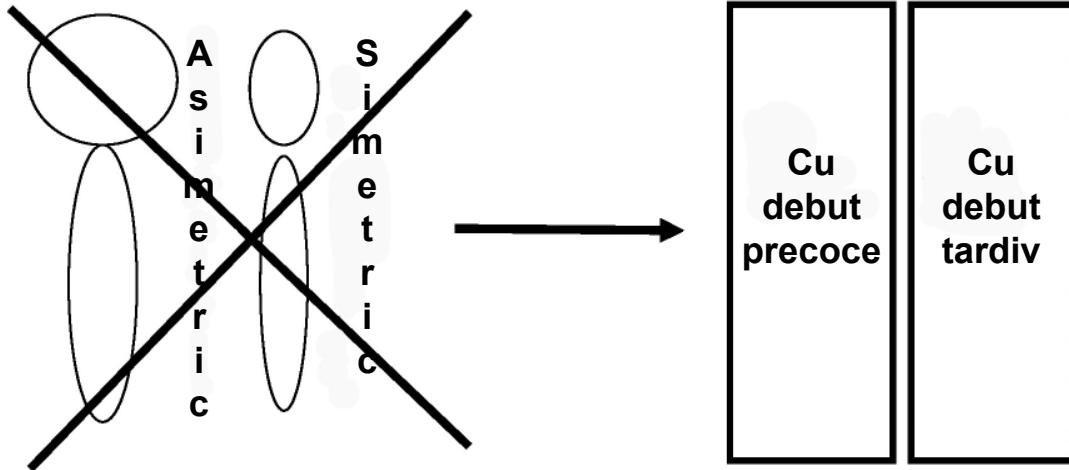
În obstetrică clasică și neonatologie, se distingeau două forme ale retardului de dezvoltare intrauterine: formă simetrică și formă asimetrică. Se afirmă că acestea diferă în ceea ce privește factorul etiologic, timpul de apariție, gradul de afectare al fătului și precizarea viabilității sale. Clasificarea se baza pe raportul dintre mărimea circumferinței capului, lungimea și greutatea corporală a fătului și/sau a nou-născutului. Restricția de creștere simetrică se datora

tului abdominal. Această clasificare nu mai este actuală și nu se mai recomandă să fie utilizată [30, 35].

Protocoloalele internaționale publicate în ultimii 5 ani sugerează clasificarea restricției de creștere fetale în

1. Cu debut precoce până la 32 sa
2. Cu debut tardiv după 32 să.

Această clasificare corespunde evoluției clinice a bolii. Restricția de creștere fetală cu debut precoce se asociază frecvent cu pre-eclampsia, insuficiență placentară severă.



**Fig. 4. Obstetrică actuală clasifică restricția de creștere fetală în restricție cu debut precoce (până la 32 sa), și restricție de creștere fetală cu debut tardiv (după 32 sa).**

fie scăderii potențialului de creștere a fătului (tulburări genetice, infecție intrauterină), fie factorilor exogeni care acționau în primele etape ale sarcinii (malnutriție maternă, fumat, alcool și consum de droguri). Formă simetrică a retard se dezvoltă precoce în sarcină, și se caracterizează printr-o scădere uniformă a tuturor organelor fătului. Formă asimetrică se considera acel retard de dezvoltare ce apărea în trimestrul III de sarcină pe fondul insuficienței placentare cauzate de diverse boli extragenitale și complicații ale sarcinii. Formă asimetrică se caracteri-

Această insuficiență se traduce prin Doppler patologic pe arterele uterine. Tranzitul insuficient prin placentă cauzează hipoxia fetală cronică. Dacă este lăsat netratat, starea fetală se deteriorează odată cu progresia spre hipoxie și acidoză decompensată. Acidoză decompensată se traduce prin Doppler nul sau revers pe arteră ombilicală, duct venos patologic. Latența deteriorării fetale severe poate varia în cazuri individuale, dar durează în mod normal săptămâni. Se poate asocia cu deces antenatal, morbiditate precoce. Managementul acestor cazuri reprezintă o dilema și

**Tabel 2. Clasificarea actuală a restricției de creștere fetală.**

RFC precoce < 32 săptămâni	RCF tardivă > 32 săptămâni
20-30%	70- 80%
Preeclampsie 50%	Asocierea cu preeclampsia este rară
Insuficiență placentară severă, AUt PI crește	Afectarea placentară este ușoară, AUt PI este normal
Hipoxie fetală cronică cu fenomene de adaptare cardiovasculară sistemică evidente - hipoxia și acidoză fetală AO PI și DV anormal	Înaltă asociere cu alterarea raportului cerebro-placentar (RCP)
Deteriorare fetală progresivă, în câteva săptămâni	Deteriorare acută, rapidă, care contribuie major la prevalența mortalității fetale prenatale, anomalii de ritm cardiac
Moartea fetală intrauterină	Se consideră mai benignă
Management complex	Diagnostic problematic

urmărește obținerea celui mai bun echilibru între riscurile de deces antenatal versus complicațiile prematurității [23]. Restricția de creștere cu debut tardiv se întâlnește în 70-80% cazuri. Se asociază cu preeclampsia în 10% cazuri. Adaptarea fetală la hipoxie se traduce prin fenomene de redistribuție sanguină, cu vasodilatație cerebrală și vasoconstricție în segmentul periferic, din care cauză raportul cerebro placentar este patologic [5]. Deteriorarea fetală survine rapid, brusc, se traduce prin distress fetal în timpul travaliului și cu acidoza neonatală, din care cauză starea acestor fetoși în travaliu trebuie supravegheată prin cardiotocograma continuă [2, 26].

### Concluzii.

Societatea obstetrică internațională prin protocoalele ISUOG, RCOG, ACOG, CNGOF, NZMFMN, MRCPI, SOGC vine cu un șir de recomandări care ar permite depistarea precoce a gravidelor ce ar putea dezvolta restricție de creștere fetală și soluționarea mai optimă a acestor cazuri. Aceste modificări încep de la substituirea termenului de retard de dezvoltare intrauterin prin restricție de creștere fetală, continuă cu propunerea de a efectua profilaxia complicațiilor vasculare în sarcină prin administrarea aspirinei, modificarea clasificării restricției de creștere intrauterină fetală, acceptarea unanimă a criteriilor Delphi va facilita stabilirea diagnosticului de restricție de creștere fetală.

### Bibliografia.

1. American College of Obstetricians and Gynecologists.. "Fetal Growth Restriction." ACOG Practice Bulletin No. 134.
2. Aviram A, Sherman C, Kingdom J, Zaltz A, Barrett J, Melamed N. Defining early versus late fetal growth restriction by placental pathology. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2019; 98: 365- 373.
3. Baschat AA. Neurodevelopment following fetal growth restriction and its relationship with antepartum parameters of placental dysfunction. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2011;37:501-14

4. Crispi F, Miranda J, Gratacós E. Long-term cardiovascular consequences of fetal Growth restriction: biology, clinical implications, and opportunities for prevention of adult disease. *Am J Obstet Gynecol.* 2018; 218( 2S): S869– S879.
5. DeVore GR. The importance of the cerebroplacental ratio in the evaluation of fetal well- being in SGA and AGA fetuses. *Am J Obstet Gynecol* 2015;213:5-15.
6. Ego A, Prunet C, Lebreton E, et al. Customized and non-customized French intrauterine growth curves. *Methodology [in French]. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 2016;45:155-64.
7. Francis JH, Permezel M, Davey MA. Perinatal mortality by birthweight centile. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2014; 54: 354– 359.
8. Gardosi J, et al: Maternal and fetal risk factors for stillbirth: population-based study. *BMJ* 2013;346:f108.
9. Ghi T, Cariello L, Rizzo L, et al. Customized fetal growth charts for parents' characteristics, race, and parity by quantile regression analysis: a cross-sectional multicenter Italian study. *J Ultrasound Med* 2016;35:83-92.
10. Gordijn SJ, Beune IM, Thilaganathan B, et al. Consensus definition of fetal growth restriction: a Delphi procedure. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016;48:333-9.
11. Grangé G. Modalités de dépistage et de diagnostic du fœtus petit pour l'âge gestationnel *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 2013 ; 42 10.1016/j.jgyn.2013.09.015
12. Hanley GE, Janssen PA. Ethnicity-specific birth weight distributions improve identification of term newborns at risk for short-term morbidity. *Am J Obstet Gynecol* 2013;209: 428.e421-6.
13. Khalil A, Morales-Rosello J, Townsend R, et al. Value of third-trimester cerebroplacental ratio and uterine artery Doppler indices as predictors of stillbirth and perinatal loss. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016;47:74-80.
14. Lausman A, Kingdom J. Intrauterine growth

- restriction: screening, diagnosis and management. SOGC clinical practice guideline no. 295. *J Obstet Gynaecol Can* 2013;35:741-8.
15. Lawin-O'Brien AR, Dall'Asta A, Knight C, et al. Short-term outcome of periviable small-for-gestational-age babies: is our counseling up to date? *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016; 48: 636- 641.
  16. Lees CC, Marlow N, van Wassenaer-Leemhuis A, et al. 2 year neurodevelopmental and intermediate perinatal outcomes in infants with very preterm fetal growth restriction (TRUFFLE): a randomised trial. *Lancet.* 2015; 385: 2162- 2172.
  17. Levine TA, Grunau RE, McAuliffe FM, Pinnamaneni R, Foran A, Alderdice FA. Early childhood neurodevelopment after intrauterine growth restriction: a systematic review. *Pediatrics.* 2015; 135: 126- 141.
  18. Lindstrom L, Wikstrom AK, Bergman E, Lundgren M. Born small for gestational age and poor school performance how small is too small? *Horm Res Paediatr* 2017;88: 215-23.
  19. MacDonald TM, Hui L, Tong S, et al. Reduced growth velocity across the third trimester is associated with placental insufficiency in fetuses born at a normal birth weight: a prospective cohort study. *BMC Med* 2017;15:164.
  20. MacLennan AH, Thompson SC, Gecz J. Cerebral palsy: causes, pathways, and the role of genetic variants. *Am J Obstet Gynecol* 2015;213:779-88.
  21. Murray E, Fernandes M, Fazel M, Kennedy SH, Villar J, Stein A. Differential effect of intrauterine growth restriction on childhood neurodevelopment: a systematic review. *BJOG.* 2015; 122: 1062- 1072.
  22. Nardoza LM, Caetano AC, Zamarian AC, et al. Fetal growth restriction: current knowledge. *Arch Gynecol Obstet.* 2017; 295: 1061- 1077.
  23. Nawathe A, Lees C. Early onset fetal growth restriction. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2017; 38: 24– 37.
  24. New Zealand Maternal Fetal Medicine Network. Guideline for the management of suspected small for gestational age singleton pregnancies and infants after 34 wk' gestation. New Zealand Maternal Fetal Medicine Network; 2014.
  25. Papageorgiou AT, Ohuma EO, Altman DG, et al. International standards for fetal growth based on serial ultrasound measurements: the Fetal Growth Longitudinal Study of the INTERGROWTH-21st Project. *Lancet* 2014;384:869-79.
  26. Parra-Saavedra M, Crovetto F, Triunfo S, et al. Placental findings in late-onset SGA births without Doppler signs of placental insufficiency. *Placenta* 2013;34:1136-41.
  27. Roex A, Nikpoor P, van Eerd E, Hodyl N, Dekker G. Serial plotting on customized fundal height charts results in doubling of the antenatal detection of small for gestational age fetuses in nulliparous women. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2012;52:78-82
  28. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists "The Investigation and Management of the Small-for-Gestational-Age Fetus." RCOG Green-top Guideline No. 31.
  29. Savchev S, Sanz-Cortes M, Cruz- Martinez R, et al. Neurodevelopmental outcome of full-term small-for-gestational-age infants with normal placental function. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013;42:201-6.
  30. Salomon, LJ, Alfirevic, Z, Da Silva Costa, F et al. ISUOG practice guidelines: ultrasound assessment of fetal biometry and growth. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2019; 53: 715–723
  31. Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada. (2013) "Clinical Practice Guideline No. 295. Intrauterine Growth Restriction: Screening, Diagnosis, and Management." *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*; 35(8):741-748.
  32. Temming LA, Dicke JM, Stout MJ, et al. Early second-trimester fetal growth restriction and adverse perinatal outcomes. *Obstet Gynecol.* 2017; 130: 865-869.
  33. Unterscheider J, O'Donoghue K, Malone FD. Guidelines on fetal growth restriction: a comparison of recent national publications. *Am J Perinatol* 2015;32:307-16.
  34. Urquia ML, Berger H, Ray JG. Risk of adverse outcomes among infants of immigrant women according to birth-weight curves tailored to maternal world region of origin. *CMAJ* 2015;187:E32-40.
  35. Vayssiere C, Sentilhes L, Ego A, et al. Fetal growth restriction and intrauterine growth restriction: guidelines for clinical practice from the French College of Gynecologists and Obstetricians. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2015;193:10-8.
  36. WHO Multicentre Growth Reference Study Group. WHO child growth standards based on length/height, weight and age. *Acta Paediatr Suppl* 2006;450:76-85.
  37. Zhang-Rutledge K, Mack LM, Mastrobattista JM, Gandhi M. Significance and outcomes of fetal growth restriction below the 5th percentile compared to the 5th to 10th percentiles on midgestation growth ultrasonography. *J Ultrasound Med.* 2018; 37: 2243-2249.
  38. Zhong Y, Zhu F, Ding Y. Serum screening in first trimester to predict pre-eclampsia, small for gestational age and preterm delivery: systematic review and meta-analysis. *BMC Pregnancy Childbirth* 2015;15:191.

IURIE DONDIUC, ANDRIANA MARIAN, GHEORGHE CALIGA

## PREGĂTIREA PSIHOPROFILACTICĂ ANTENATALĂ – IMPACT ȘI BENEFICII

*Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu"  
Departamentul de Obstetrică și Ginecologie*

### SUMMARY

**Introduction:** A pressing issue in modern obstetrics is women's preparedness for childbirth, both from a medical and psycho-emotional perspective. The psycho-emotional state and birth readiness of a pregnant woman, on a great extent determines the future course of labor. Multiple psychological and emotional factors cause potential complications during childbirth and damage the obstetric and perinatal outcomes.

**Aim:** Assessing the development and effectiveness of psychoprophylactic preparation of pregnant women, and estimating the impact of antenatal training on childbirth.

**Materials and Methods:** The study is based on a survey of 299 participants. The inquiries involved questions on overall health condition, observations during pregnancy, experience during delivery and psychological training. The data was processed through statistical analysis.

**Results:** The inquiry indicates that 104 participants (34,8%) found out about the existence of psychoprophylactic training only after the childbirth as a result of our inquiries. Further, 195 women (63,5%) were informed about prenatal training by diverse sources, but only 71 (23,7%) pregnant women participated in psycho-prophylactic trainings and 228 (76,3%) did not follow any kind of prenatal education. The largest share of guidance was provided by the obstetrician-gynecologist (79%), followed by the psychologist (60%) and the family doctor that was involved up to 21% of the time. Obtained results also point out that birth analgesia was applied to 90 respondents (30%), of which 68.8% did not attend psychoprophylactic training courses. Among the pregnant women that followed the training program, 75% of cases did not involve obstetric trauma during delivery process. In contrast, 2/3 of the participants who did not follow the educational program encountered some kind of lesions of reproductive tissues.

**Conclusions:** Obtained results confirm the benefits of antenatal psychoprophylactic training. This type of training helps minimize and exclude negative psychoemotional factors and is therefore an effective way of preventing birth complications and improving birth experience.

**Key words:** antenatal psychoprophylactic preparation, birth, birth complications.

### РЕЗЮМЕ

## ПСИХОПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ АНТЕНАТАЛЬНАЯ ПОДГОТОВКА

**Введение:** Готовность женщины к родам с медицинских и эмоциональных точек зрения является одним из актуальных вопросов современного акушерства. Психологическое состояние женщины, ее подготовленность к процессу родов, во многом определяет физиологическое течение родового акта. Многие психологические и эмоциональные факторы обуславливают возникновение осложнений в процессе родов, способствуют ухудшению акушерских и перинатальных исходов.

**Цель исследования:** Оценка развития процесса психопрофилактической антенатальной подготовки беременных женщин, его эффективности и влияния на течение родов.

**Материалы и методы:** В исследовании использованы результаты анкетирования 299 родивших женщин, которые состояли из общих клинических вопросов, а также вопросов по антенатальному наблюдению настоящей беременности, течению и исхода родов, посещения тренингов подготовки к родам. Статистическая обработка и анализ выполнялся с использованием статистических программ.

**Rezultate:** О существовании психопрофилактической программы дородовой подготовки 104 женщины (34,8%) узнали уже после родов, в процессе анкетирования. Во время настоящей беременности об этой форме обучения информированы из разных источников 195 (63,5%) женщины, но только 71 беременная женщина (23,7%) участвовала в психопрофилактических тренингах, а 228 (76,3%) не посещали никаких занятий. Основным тренером в учебном процессе был врач акушер-гинеколог (79%), за которым следовали психолог (60%) и семейный врач, который принимал участие только в 21% случаев обучения. Результаты исследования показали, что обезболивание родов было применено к 90 респондентам (30%), из которых 68,8% не посещали психопрофилактические учебные курсы. У беременных женщин, принимавших участие в тренингах, роды закончились без акушерской травмы в 75% случаев, в отличие от беременных, не посещавших курсы, у которых в 2/3 случаях имели место разрывы мягких тканей родовых путей.

**Выводы:** Психопрофилактическая подготовка беременной пациентки позволяет добиться минимизации и устранения негативных психо-эмоциональных факторов, являясь эффективным средством предупреждения осложнений и улучшения исходов родов.

**Ключевые слова:** психопрофилактическая подготовка к родам, роды, осложнения родов

**Introducere.** Reviul literaturii de specialitate relevă faptul una din cinci femei însărcinate prezintă o frică moderată de naștere și 6–10% din toate femeile gravide suferă de o temere severă de naștere [12]. Acestea, la rândul lor, pot să provoace manifestări de anxietate și stres, ceea ce duce la tulburări fizice și psihice și la apariția unor probleme emoționale cum ar fi depresia, care este cuprinsă între 13% și 21% [2, 4, 7].

Cursul fiziologic al actului de naștere este determinat în mare măsură de starea psihoemoțională a femeii în timpul sarcinii și înainte de naștere. Cel mai des complicațiile frecvente ale nașterii, cum ar fi distociile dinamice ale travaliului, asociate cu hipoxie intrauterină a fătului, sunt cauzate de factori psihoemotivi, care depind direct de pregătirea femeii însărcinate pentru naștere [1, 13]. Există dovezi convingătoare, bazate pe cercetări științifice, conform cărora stresul emoțional, frica, anxietatea la o femeie însărcinată înainte de naștere agravează rezultatele, atât pentru mama, cât și pentru făt [8, 14]. Ținând cont de acest fapt, este necesar să subliniem importanța pregătirii psihoprofilactice a femeilor însărcinate la etapa prenatală. Această pregătire specială, inclusiv cu implicarea și participarea în acest proces a partenerului, reduce frica, stresul și anxietatea înainte de naștere, formând o dominantă pozitivă a travaliului, reduce numărul de complicații, contribuind la cursul fiziologic al procesului de naștere și perioadei postnatale [3, 5, 6, 9].

La nivel global nu există un standard pentru organizarea acestor sesiuni, cum ar fi numărul lor, metodele de abordare, dar sunt disponibile recomandările OMS pentru structura și punctele cheie care trebui să fie cunoscute de către femei, fiecare stat urmând să le adapteze, reieșind din specificul lor. În țările dezvoltate există o varietate amplă de obținere a cunoștințelor necesare pentru cuplurile care doresc să devină părinți. Participarea la cursurile de instruire este un factor important, dar această formă de consiliere prenatală nu este obligatorie [11].

În Republica Moldova, în conformitate cu recomandările

OMS, în scopul îmbunătățirii sănătății materne, protecției maternității, micșorării morbidității și mortalității materne, prin ordinul Ministerului Sănătății nr.31 din 27.01.2016 a fost aprobat „Standardul de supraveghere a gravidelor în condițiile de ambulator”. În prevederile acestui Standard a fost inclus și „Programul de pregătire psihoprofilactică a gravidei”, care trebuie să fie realizat, în perioada antenatală, de instituția medicală în evidența căreia se află gravida. [9]

**Scopul studiului.** Aprecierea desfășurării procesului de pregătire psihoprofilactică a gravidelor, eficacității lui și estimarea impactului instruirilor antenatale asupra evoluției nașterii.

**Materiale și metode.** Cercetarea reprezintă un studiu prospectiv pe un lot de 299 de femei, fără patologii obstetricale și extragenitală, care au născut în maternitățile Institutului Mamei și Copilului și Spitalul Clinic Municipal nr.1 din mun. Chișinău pe parcursul anului 2019. Pentru colectarea datelor, a fost elaborat și utilizat un chestionar special de evaluare a procesului de instruire antenatală a femeilor gravide și evoluției nașterii, care a inclus mai multe criterii de ordin general și specific, cum ar fi: caracteristica generală a pacientelor, anamneza și conduita clinică, complicațiile nașterii și perioadei de lăuzie, cunoașterea despre programul de pregătire psihoprofilactică, fricile față de procesul de naștere, participarea la cursurile de instruire, forma de organizare a instruirilor, tematicile, așteptările, utilitatea și impactul lor etc. Rezultatele obținute au fost analizate prin calcularea indicilor de frecvență a valorilor medii și a devierii valorii medii aritmetice cu ajutorul SPSS 23 și Microsoft Excel, fiind prezentate în text, tabele și diagrame.

**Rezultate și discuții.** Caracteristica după criteriul de reședință prezintă un număr mare de femei care locuiesc în zona rurală a țării 59,5% (178 persoane), iar restul 40,5% (121 persoane) – în municipii, orașe/ centre raionale.

Repertizarea pacienților conform criteriului de vârstă a demonstrat că majoritatea femeilor erau de vârstă reproductivă optimă, cu o medie de  $28,2 \pm 5,2$  ani. Doar 0,7% dintre femei au fost mai tinere de 19 de ani, și 0,9% – cu vârsta peste 40 de ani.

Din lotul femeilor incluse în studiu s-a stabilit, că 208 persoane (68,2%) au fost angajate în câmpul muncii, din ele 22 (7,4%) femei fiind studente, 95 (31,8%) funcționare, 22 (7,4%) persoane activau în sistemul medical, o treime - 91 (30,4%) au fost neangajate.

Un alt aspect evaluat a fost statutul marital al femeilor, care a stabilit că majoritatea absolută a acestora – 275 femei (92,0%) erau căsătorite, 8 (2,7%) trăiau în concubinaj și 16 (5,4%) erau celibatate.

În urma estimării nivelului de școlarizare s-a dovedit că cele mai multe persoane aveau studii superioare – 162 (54,2%), studii liceale – 43 (14,4%), studii medii - 93 (31,1%), neșcolarizată - 1 persoană (0,3%).

La 199 (66,6%) de femei sarcina a fost planificată, pe când la 1/3 din femei, aceasta survenit neplanificat.

Analiza parității nașterilor a arătat că 125 (41,8%) de femei erau primipare, 126 femei (42,1%) secundipare, la a III-a naștere au fost 34 (11,4%), la a IV-a - 8 (2,7%) și mai mult de 5 nașteri au avut 6 gravide - 2,0%.

Termenul stabilirii la evidență în legătură cu sarcina, în cadrul asistenței medicale primare, în majoritatea absolută a cazurilor – 251 (83,9%) a fost până la 12 săptămâni. La termenul 13-15 săptămâni s-au înregistrat 26 de gravide (8,7%), încă 15 (5,0%) la 16-19 săptămâni, și numai 7 gravide (2,3%) a efectuat prima vizită la medic după 20 săptămâni de amenoree. Termenul mediu de stabilire la evidență a fost de  $10,2 \pm 3,1$  săptămâni.

Persoana care a asigurat asistența medicală antenatală în 79,3% de cazuri a fost medicul de familie, în 20,1% medicul obstetrician-ginecolog și în 0,7% asistenta medicală. Numărul de vizite la medicul de familie a variat de la

2 până la 22, media fiind de  $6,14 \pm 1,7$  vizite, la medicul obstetrician-ginecolog au avut loc până la 30 vizite, cu o medie de  $4,4 \pm 2,6$  vizite.

La femeile chestionate (299) au fost identificate mai multe patternuri anxiogene (figura 1), care s-au manifestat prin:

- Teama de durere în naștere - 198 de femei (66,2%);
- Teama de o patologie ereditară - 79 femei (26,4%);
- Frica de o anomalie la făt - 102 femei (34,1%);
- Frica de suferință fetală în naștere - 162 femei (54,2%);
- Teama de anestezie la 65 femei (21,7%);
- Frica de riscul morții la naștere era prezentă la 109 gravide (36,5%);
- Teama de incapacitate fizică de a naște de sinestător - 87 gravide (29,1%);
- Frica să nu fie schimbat copilul a persistat la 51 gravide (17,1%),
- Teama de statutul și responsabilitatea de mamă - 69 femei (23,1%).

Despre existența programului de pregătire psihoprofilactică pentru naștere 104 persoane (34,8%) au aflat tocmai după naștere, în procesul chestionării. În timpul sarcinii au auzit despre existența acestei forme de instruire 195 (63,5%) de femei. Sursele de informare au fost din cele mai diverse: direct de la medicul de familie 44 (22,7%), medicul obstetrician-ginecolog 42 (22%), asistenta medicală 4 (2%), alt angajat din sistemul de sănătate 4 (2%), de la altă gravidă 39 (20%), din presă s-au informat 11 femei (5,6%), carnet medical perinatal 4 (2%), internet 19 (9,7%), 4 gravide (2%), fiind studente la medicină, din programul de instruire universitară, iar celelalte 24 (12%) din alte surse.

A fost stabilită o legătură între termenul de stabilire la evidență și cunoașterea despre programul de pregătire psihoemoțională. Astfel, gravidele care s-au stabilit până la termenul de 12 săptămâni au fost informate mai des de către medicii de familie despre acest pro-

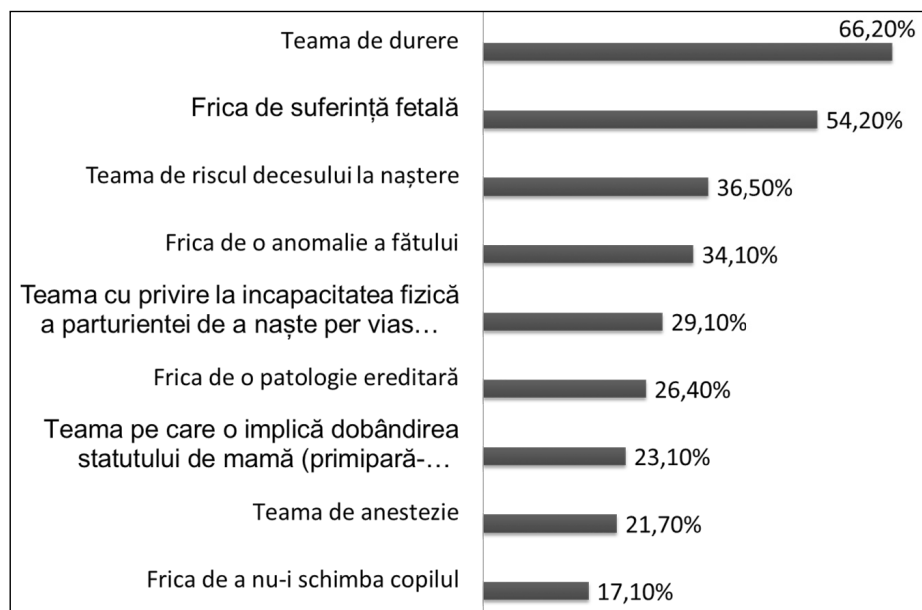


Figura 1. Distribuția pattern-urilor anxiogene la femeile incluse în studiu.

gram ( $p=0,165$ ). La fel, stabilirea precoce la evidență a fost respectată de către femeile care au planificat sarcina ( $p=0,327$ ) și acestea au tins să se informeze despre toate vizitele obligatorii și despre lecțiile pentru gravide ( $p=0,21$ ).

Doar 71 de gravide (23,7%) au participat la instruirile psihoprofilactice, pe când altele 228 (76,3%) nu au fost la nicio ședință. Toate persoanele care nu au participat la instruire și-au argumentat absența prin următoarele afirmații: “nu a știut unde și când se organizează” - 160 persoane (53,5%), “nu a avut timp” - 37 persoane (12,4%) și “nu a dorit să participe” - 30 persoane (10%). În sine programul deplin include 4 ședințe, în studiul prezent doar 10 femei (3,3%) au participat la toate ședințele, 25 femei (8,4%) la 3 ședințe, 15 femei (5%) la 2 și 21 femei (7%) au participat doar la o singură ședință. În medie, gravidele au participat la  $2,3 \pm 1,1$  ședințe. Majoritatea gravidelor - 60,5 % care au participat la pregătire psihoprofilactică au fost din mediul urban, ele frecventând și mai multe ședințe ale programului, comparativ cu cele din mediul rural. Totodată, în procesul chestionării, 70,1% gravide și-au exprimat dorința de a participa la asemenea instruire la o eventuală sarcină.

În 80% de cazuri, cursurile de pregătire au avut loc în cadrul asistenței medicale primare, unde femeile s-au aflat la evidență antenatală, pe când restul au ales să frecventeze cursuri oferite de diferite structuri private și niciuna nu a fost invitată pentru instruire în maternitățile publice. Au fost la ședințe împreună cu partener doar 8 gravide (11,7%), acompaniate de prietenă sau soră - 6 (8,4%). În același timp, gravidele însoțite de partener la pregătirea psihoprofilactică au declarat că s-au simțit mai încredute în forțele proprii și au trecut mai ușor prin procesul de naștere.

A fost stabilită o corelație pozitivă între vârsta pacientelor și participarea la lecții. Astfel, gravidele mai tinere au avut tendința pentru o frecvență mai mare la program ( $p=0,228$ ). De asemenea, ele au solicitat mai des informații despre acest program și consiliere în legătura cu sarcina.

În 94% dintre cazuri ședințele au avut loc în grupuri de persoane. Timpul recomandat pentru instruire a fost respectat în 25% dintre cazuri, durata unei ședințe fiind de 30 min în 24% dintre cazuri, 60 min în 51%, 90 min - 13%, 150 min - 7% și 180 min în 5% dintre cazurile cercetate.

Componența echipei de instruire a variat, formatori fiind medicul obstetrician-ginecolog (79% cazuri), psiholog

(60%), medicii de familie (21%), moașă (15%), pediatru (20%) și persoane fără studii medicale (5%).

Au considerat utile aceste instruirii 95,6% din persoane participante și doar 2 gravide le-au etichetat ca ineficiente, din cauza organizării precare sau explicării insuficiente. În 86% cazuri gravidele au apreciat lecțiile prin calificativul „foarte bune” și „bune”, „satisfăcătoare” - 14%, de asemenea 84% au apreciat cursurile ca fiind „utile” și „foarte utile”, 11 % le-au considerat „absolut indispensabile”, 3 gravide - „puțin utile”.

Din numărul total de gravide incluse în studiu, la 244 (81,6%) travaliul a debutat spontan, nașterea a fost indusă cu prostoglandine la 36 (12%) și la 20 (6,6%) prin amniotomie. Până la urmă, nașterea s-a finalizat pe căile naturale la 225 (75,3%) de gravide. În același timp nașterea s-a complicat cu insuficiența forțelor de contracție în 36 cazuri (12%), în 3 cazuri (1%) cu travaliu hiperchinctic, în 8,4% cazuri a fost aplicată ventuza obstetricală din cauza bradicardiei fetale sau insuficienței secundare a forțelor de contracție. Mai des distociile dinamice au apărut în grupul femeilor care nu a urmat instruire psihoprofilactice - 9,2%, în comparație cu cele care au frecventat - 3%. Din cauza sindromului algic pronunțat analgezia nașterii a fost aplicată la 90 de respondente (30%), dintre acestea 68,8% nu au urmat cursurile de pregătire psihoprofilactică.

Cele mai frecvente complicații - 136 (45,5%) - care au avut loc la femeile incluse în studiu s-au manifestat prin ruptura căilor moi de naștere: vaginului în 32,4% cazuri, colului uterin - 10,4%, perineului de gradul I - 13,7%, perineului de gradul II - 22,7%, perineului de gradul III - 3,3%, labiilor - 4,7%. Analizând rezultatele studiului am constatat că la femeile care au participat la ședințele de instruire nașterea s-a finalizat fără traumatism obstetrical în 75% dintre cazuri, pe când la gravidele care nu s-au prezentat la nici o ședință, frecvența nașterii fără traumatism matern a fost în 25% dintre cazuri. Nașterea asistată a fost mai frecventă în cazurile în care gravidele nu au urmat cursurile de pregătire psihoprofilactică - 17 cazuri, comparativ cu 8 la cele care au frecventat ciclurile de instruire. Prin operație cezariană au născut 74 de femei, dintre acestea 85% nu au frecventat cursurile de instruire (tabelul 1).

**Concluzii.** Femeile chestionate dispuneau de o experiență de viață, având o vârstă medie de  $28,2 \pm 5$  ani, majoritatea din ele fiind căsătorite (92,0%), cu o pondere de școlarizare înaltă (99,7%) și o rată ridicată de încadrare în

**Tabelul 1. Evoluția travaliului în dependență de pregătirea psihoemoțională antenatală**

	Distocii dinamice	Operație cezariană	Traumatism obstetrical	Administrarea analgeziei	Naștere pneumatică
Femei care <b>au participat</b> în cadrul instruirilor antenatale	3%	15%	25%	31,2%	2,67%
Femei care <b>nu au participat</b> în cadrul instruirilor antenatale	9,2%	85%	75%	68,8%	5,68%



câmpul muncii sau studii (68,2%). Concomitent, analiza efectuată a demonstrat prezența la aceste femei a responsabilității înalte pentru viitorul copil și propria sănătate. Aceasta s-a manifestat prin stabilirea precoce, până la 12 săptămâni, în evidența medicală în legătură cu sarcina (83,9%) și multiple vizite la medic pe parcursul gravidității (6,14±1,7 vizite la medical de familie, 4,4±2,6 vizite la medicul obstetrician ginecolog, prevederile standardului în vigoare – 7 vizite în total).

După stabilirea la evidența medicală antenatală numai 22% de gravide au fost informate de către medicul de familie și 14% de către medicul obstetrician-ginecolog despre necesitatea pregătirii psihoprofilactice către naștere. O bună parte de femei au aflat despre existența acestei forme de pregătire din alte surse (6,4% din internet, 3,7% din presă, 13% de la altă gravidă), iar 40,9 % de femei absolut nu au știut despre existența acestui mod de instruire antenatală. Rata femeilor gravide implicate în pregătirea psihoprofilactică în sarcină este foarte joasă – 23,7%, în același timp, fricile și anxietatea față de naștere au manifestat majoritatea din femei, iar cele instruite pe parcursul sarcinii au avut un număr mai mic de complicații. Principalul formator în procesul de instruire a fost medicul obstetrician-ginecolog (79%), urmat de psiholog (60%) și medicul de familie 21%.

Nivelul redus de instruire antenatală se atribuie sistemului medical, unde se constată o informare insuficientă a femeilor și organizarea deficientă a cursurilor psihoprofilactice în cadrul maternităților și instituțiilor responsabile de supravegherea antenatală a gravidelor.

Pregătirea psihoprofilactică antenatală reprezintă un instrument important de instruire, care contribuie la dezvoltarea abilităților teoretice și practice de comportament în timpul sarcinii, nașterii și perioadei postpartum. Aceasta sporește depășirea fricilor gravidelor, ameliorarea anxietății lor față de procesul de naștere, precum și pregătirea viitorului tată pentru participarea la naștere, recunoașterea rolului său în această perioadă importantă a vieții familiale.

Rezultatele obținute în urma studiului efectuat confirmă beneficiile programului de pregătire psihoprofilactică pentru gravide, care și în continuare ar trebui să fie o componentă obligatorie în structura îngrijirilor antenatale.

#### Referințe

- Adams SS, Eberhard-Gran M, Eskild A. Fear of childbirth and duration of labour: a study of 2206 women with intended vaginal delivery. *BJOG*. 2012 Sep;119(10):1238-46 [DOI:10.1111/j.1471-0528.2012.03433.x];
- Fairbrother, N., Young, A.H., Janssen, P., Antony, M.M., Tucker, E., 2015. Depression and anxiety during the perinatal period. *BMC Psychiatry* 15, 206. doi: 10.1186/s12888-015-0526-6 ;
- Ferguson S, Davis D, Browne J. Does antenatal education affect labour and birth? A structured review of the literature. *Women Birth*. 2013;26(1):e5–e8. doi: 10.1016/j.wombi.2012.09.003;
- Glover V. The effects of prenatal stress on child behavioural and cognitive outcomes start at the beginning. *Encycl Early Child Dev* 2011;1–5;
- Gökçe sbir G, İnci F, Önal H, Yıldız PD. The effects of antenatal education on fear of childbirth, maternal self-efficacy and post-traumatic stress disorder (PTSD) symptoms following childbirth: an experimental study. *Appl Nurs Res*. 2016 Nov; 32:227-232;
- Krans E, Moloci N, Housey M, Davis M. Impact of psychosocial risk factors on prenatal care delivery: A National Provider Survey. *Maternal and Child Health Journal*. 2014;18:10:2362-2370. doi: 10.1007/s10995-014-1476-1
- Kurki T, Hiilesmaa V, Raitasalo R, Mattila H, Ylikorkala O. Depression and anxiety in early pregnancy and risk for preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2000;95(4):487–90;
- Soriano-Vidal FJ, Vila-Candel R, Soriano-Martín PJ et al. The effect of prenatal education classes on the birth expectations of Spanish women. *Midwifery*. 2018 May; 60:41-47;
- w.w.ms.gov.md/sites/default/files/legislatie/ord.\_mr.\_31\_din\_27.01.1016 \_standardele\_noi\_gravide\_in\_conditii\_de\_ambulator\_1.pdf;
- Warriner S, Crane C, Dymond M, Dymond M, Krusche A. An evaluation of mindfulness-based childbirth and parenting courses for pregnant women and prospective fathers/partners within the UK NHS (MBCP-4-NHS) Midwifery. 2018;64:1–10. doi: 10.1016/j.midw.2018.05.004;
- WHO Recommendations on Antenatal Care for a Positive Pregnancy Experience. Geneva: World Health Organization; 2018.;
- Wijma K, Alehagen S, Wijma B. Development of the Delivery Fear scale. *Journal of Psychosomatic Obstetrics and Gynecology*. 2002;23(2):97-107 [DOI:10.3109/01674820209042791];
- Ломакіна А.В. Особенности отношения родителей к ребенку в перинатальный период. *Перинатальная психология и психология родительства*. 2006; 3:32-42.
- Рыбалка А.Н., Глазкова И.Б., Гончарова Э.Е. Психологическая подготовка беременных женщин к родам. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*.2011;1:1:113-117.

ANGELA MARIAN-PAVLENCO, OLGA SUPARSKAIA, BUQA'I SAMEH

## MANAGEMENT OF ECTOPIC PREGNANCY

### SUMMARY

**Key words:** ectopic pregnancy, laparoscopic management

**Introduction.** The reason that EP is important it's carries significant morbidity and mortality worldwide if the EP erodes through the FT, there is damage to the tube itself and a potential rupture of the adjacent blood vessels, which can lead to massive hemorrhage, infertility, or even maternal death.

**Objective of the study.** The aim of the study is to analyze the management that was made by different studies and literature and guidelines, to provide the best recommendation from them.

**Materials and methods:** The literature search involved review of mainly two online data bases, PubMed and Google scholar. The total number of retrieved articles for further review was 76 articles.

The retrospective study was as an observational, descriptive, case series study design, hospital based study. It was calculated in total a size of 226 medical records.

**Results.** We had analyzed and study a different clinical management of EP between the following countries: United Kingdom, United State, Romania, and Israel, in comparison between each other and on the other hand the study that we analyzed in hospital nr1 in Republic of Moldova.

**Conclusions:**1) Ectopic pregnancy continues to be an important cause of maternal morbidity and mortality of the first trimester of pregnancy world-wide.2) According to the protocols of United Kingdom, the United States, Romania and Israel, the patient has the right to decide the method of management for their ectopic pregnancy. 3) Laparoscopy is the gold standard for further surgical treatment.

### РЕЗЮМЕ

## МЕНЕДЖМЕНТ ВНЕМАТОЧНОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

**Ключевые слова:** внематочная беременность, лапароскопия

**Актуальность.** Причина, по которой тема внематочной беременности до сих пор остается актуальной, является высокая заболеваемость и смертность во всем мире. В случаях разрыва маточной трубы, возможны такие осложнения как массивное кровотечение, бесплодие, или даже материнская смерть.

**Цель работы.** Целью исследования является анализ различных тактик ведения пациентов в различных странах, с выявлением наилучших практических рекомендации.

**Материал и методы исследования.** Материалы литературы собраны на основании двух баз данных PubMed и Google scholar. Общее количество проанализированных статей на заданную тему 76. Ретроспективное описательное исследование заключается в анализе 223 клинических случаев.

**Результаты.** Было проанализировано и изучено различное ведение пациентов с внематочной беременностью в следующих странах США, Великобритании, Израиле, Румынии, полученные данные, были сравнены с данными по Республике Молдова, собранными в ходе нашего ретроспективного исследования в Городской Клинической Больнице 1.

**Выводы.** 1) Внематочная беременность по-прежнему является важной причиной материнской заболеваемости и смертности в первом триместре беременности во всем мире. 2) Согласно протоколам Великобритании, Соединенных Штатов, Румынии и Израиля, пациент имеет право принимать решение о методе ведения их внематочной беременности. 3) Лапароскопия является золотым стандартом для дальнейшего хирургического лечения.

## REZUMAT

# MANAGEMENTUL SARCINII ECTOPICE

### Cuvintele cheie: sarcina extrauterina, tratament laparoscopic

**Actualitatea** Motivul pentru care tema sarcinii ectopice este încă relevantă este morbiditatea și mortalitatea ridicate la nivel mondial. În cazurile când SE e asociată cu ruptura a trompei uterine, sunt posibile complicații precum hemoragia masivă, infertilitate sau chiar și deces matern.

**Scopul** studiului este analizarea diferitelor tactici de conduită a pacienților din diferite țări, cu identificarea celor mai bune recomandări practice.

**Material și metode** Material a fost colectat din două surse de date PubMed și Google School. Numărul total de articole analizate pe subiect dat este 76 publicații științifice. Un studiu descriptiv retrospectiv constă în analiza a 223 de cazuri clinice din Republica Moldova

**Rezultate** Managementul diferit al pacienților cu sarcină ectopică a fost analizat și studiat în următoarele țări SUA, Marea Britanie, Israel, România, datele obținute au fost comparate cu datele din Republica Moldova colectate în cadrul studiului nostru retrospectiv din Spitalul Clinic Municipal Nr. 1.

**Concluzii** 1) Sarcina ectopică rămâne o cauză importantă a morbidității și mortalității materne în primul trimestru de sarcină la nivel mondial. 2) Conform protocoalelor din Marea Britanie, SUA, România și Israel, pacientul are dreptul să alege metoda de tratament a sarcinii sale ectopice. 3) Laparoscopia este standardul de aur pentru tratamentul chirurgical a pacienților cu sarcină ectopica.

**Importance** The reason that EP is important it's carries significant morbidity and mortality worldwide, if the EP erodes through the FT, there is damage to the tube itself and a potential rupture of the adjacent blood vessels, which can lead to massive hemorrhage, infertility, or even maternal death [1,2]. Early diagnosis and management is important because it's reduce mortality, but will result in an increase in the reported incidence, however, traditionally, most women with EP have only presented when acute symptoms are apparent and so it is seen as a gynecological emergency [3,4]. Ectopic pregnancy according to WHO was recorded as the cause in less than 1% of deaths in developing countries and almost 5% in developed countries [5].

In the Developed countries the number of maternal deaths was 2823, the cause of 138 deaths around (4.9%) was EP. which is a high number comparing with other countries, in Africa was reported 4508 maternal death, 22 patients (0.5%) dead in cause of EP, in Latin America and the Caribbean also (0.5%) of 11777 maternal deaths was due EP about 59 patients.[1,9] Asia has the highest number 16089 maternal deaths, although of this high number the incidence of EP death was the lowest one (0.1%) around 16 patients. Deaths were characterized by a marked delay between onset of symptoms and both presentation and diagnosis [6,7,8].

Researchers found that 85% of EP related deaths were due to hemorrhage, with abdominal and interstitial pregnancies presenting later and, therefore, being more

likely to result in death, they concluded that more prompt diagnosis and management might have prevented half of deaths related to EP, and the woman seeking medical attention at an earlier stage might have prevented one third. Ectopic pregnancy also associated with long-term morbidity: infertility and recurrence of EP [9,10]

What can be seen from the data above on maternal deaths related to EP is that many of them might be avoided by increased awareness of the condition amongst women of childbearing age [11,12].

In addition, increased awareness, and guidelines for the diagnosis and management of EP, amongst the professionals who are responsible for the care of these women, is needed if the number of deaths is to be reduced to a minimum [13,14].

### Material and research methods

The present work was carried out at the Nicolae Testemițanu State University of Medicine and Pharmacy, Gynecology and Obstetrics department Hospital Nr. 1 Chisinau.

The study conducted as an observational, descriptive, case series study design, hospital based study. The study was based on collecting of medical records data, retrospective study from the point of view of temporality. The data from patient's files were captured in a Microsoft Excel. It was calculated in total a size of 226 medical records.

The study was designed to map the management of patients in the hospital Nu 1 reflected from medical records and reporting of patients on ectopic pregnancy

measures. The target population comprised women who were diagnosed and managed with EP in from the 1st January 2018 to 31st December 2019.

*Include criteria:* female, patients with age range from 18-43 years old, patients that were diagnosed with EP, patients who were managed in hospital nr. 1.

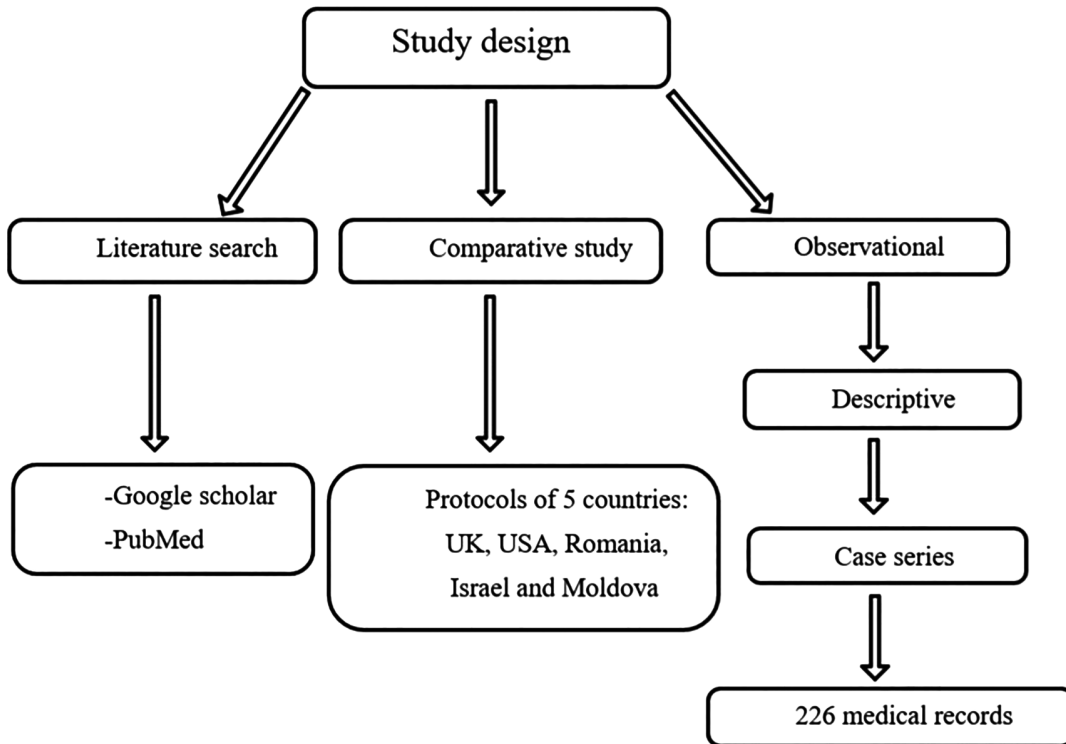
*Exclude criteria:* patients less than 18 years old, patients where were diagnosed with other pathology, patients who managed in another hospital.

Data that collected from the patient's medical records: Date of administration of the patient, Date of exertion of the patient, Patient age, Hospitalization period, Pre-sumptive diagnoses, Final diagnosis, Medical manage-

A Comparative study was performed that allowed us to analyze the management of EP defined according to the guideline protocol of the hospital nu1 of Moldova in comparison with other four countries protocols which are: United Kingdom, United States of America, Romania and Israel.

**Results and discussion**

After studying and analyzing the protocols of management of ectopic pregnancy in five different countries (UK, USA, Israel Romania and Israel) including the protocol and study we analyzed in the hospital in Republic of Moldova, was found that there are many similarities and



ment (surgical/pharmacological), Last menstrual period, Gravida and parity of the patient, History of gynecological diseases, Data of TVS investigation, Amount of blood loss during surgical intervention, Antibiotic prophylaxis management.

differences that exists among the protocols used in these five countries.

In this study were analyzed 226 patients, from various ages they were admitted to the hospital between the years 2018 and 2019, the diagnosis, management, and

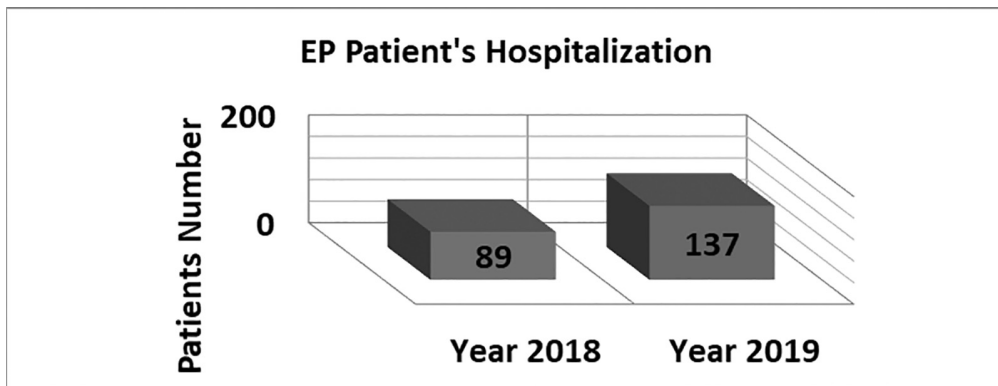


Figure 1. Year in which participant experienced their Ectopic pregnancy.

prognosis were different. The patient's age is range from 18 to 43 years old, with median age 31 years. In the hospital of Gynecology and Obstetrics Nr.1 in Chisinau, was admitted 89 patients in the year 2018 where in 2019 were admitted 137 patients with an increase by 21.23% of the incidence of EP cases in this hospital, it may be related to the increasing to various risk factors

of abdominal pain, irregular vaginal bleeding and amenorrhea that occur between 6 and 10 weeks of gestation, is consider to be a fine tool even that in many patients EP is confirmed with no symptoms. The final diagnosis of the patients has shown a very slight difference from the presumptive diagnosis, in the final diagnosis were found 131 patients with right EP, 93

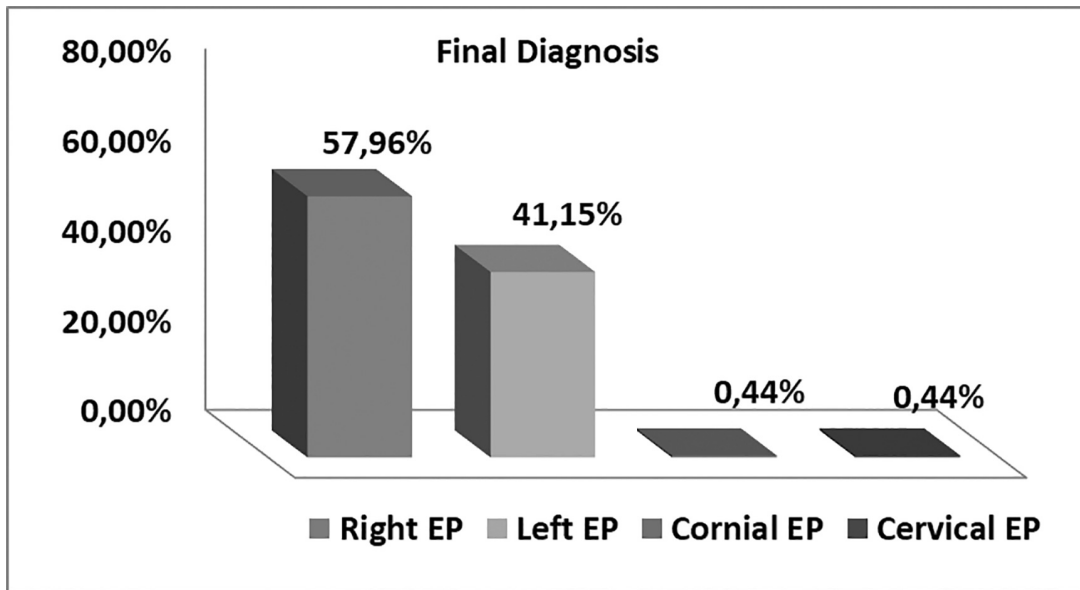


Figure 2. The final diagnosis

that we had discuss in the first chapter, which correlated with the increase in incidence of EP with other countries we had discussed above.

However, the incidence is increase, many literature shows mortality rate decreased which may be explained by early diagnosis and sufficient management, with regard to this hospital the mortality rate for EP was 0 in the period of those 2 years.

Specific abdominal symptoms in reproductive patients may accentual the diagnosis with EP, Classical triad

patients with left EP, one corneal EP and one cervical EP. Right side is the most common place for implantation of EP as we show in many literature and studies the cause is not fully known, in our patients we can see clearly that the right side is the dominated one with 57.96% in ratio, which correspond with the literatures.

The changes between presumptive diagnosis and final diagnosis were as the flowing: one case of rupture EP had a final diagnosis of right EP, in presumptive diagnosis the case of intra uterine pregnancy was finally diagnosed as

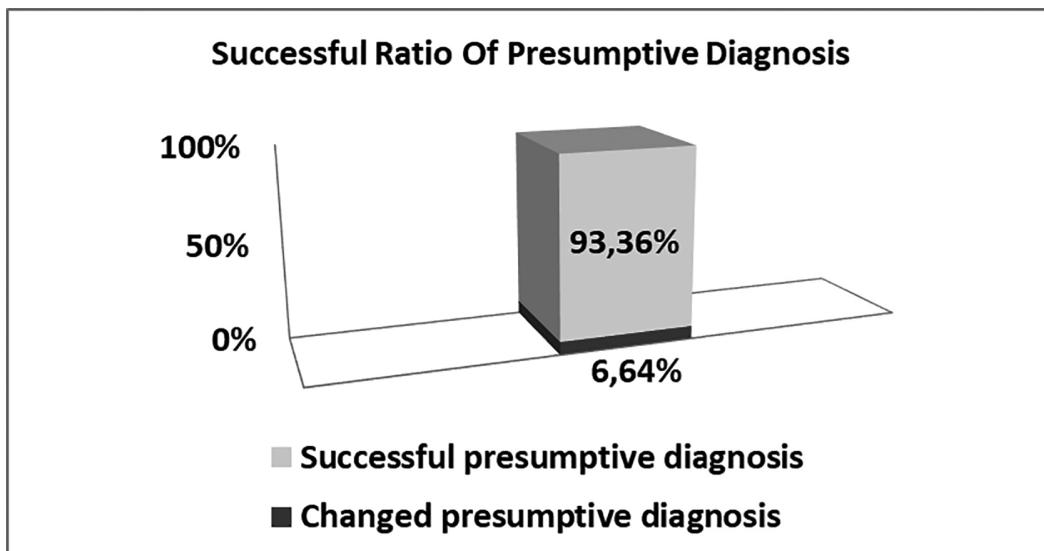


Figure 3. The ratio success of presumptive diagnosis

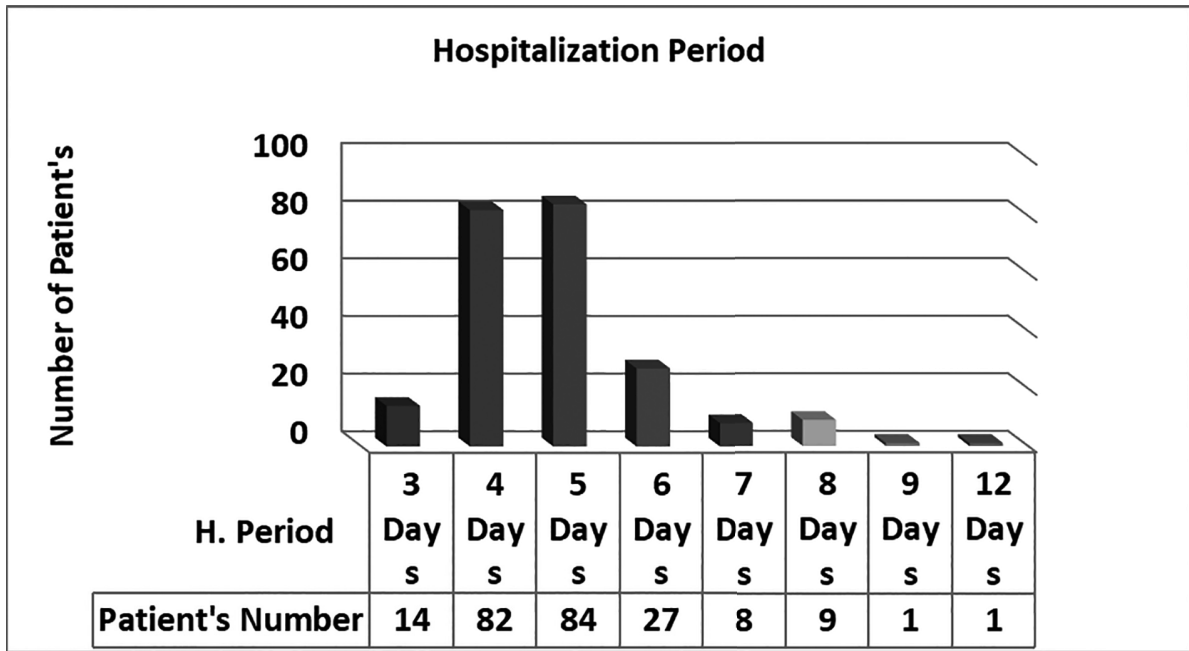


Figure 4. Length of total hospital stays, for patients with Ectopic pregnancy.

right EP, one case right EP was found in final diagnosis corneal EP, 8 presumptive right EP were finally diagnosed in left side and 4 cases of left EP were diagnosed in final diagnosis in the right side.

The majority of patients had been hospitalized for 4 and 5 days, which represent 166 patients in number, 82 patients of them were hospitalized for 4 days and they represent 36.28% of total number of 226 patients, the remaining 84 patients representing 37.17% were hospitalized for 5 days long.

The majority of the cases we analyzed hospitalization stays is until 5 days which are corresponding to the literatures, in some individual patients the period is more than normal as we see in 9 and 12 days for 1 patient for each one of them that's related to the stability of patients and the needed of them to stay in the inpatients for more follow up their own condition.

The majority of the 226 patients were treated surgically with a small number 7 patients that representing 3.10% were treated pharmacologically with MTX, in contrast to other counters USA, UK, Romania and Israel that preferred the pharmacological treatment with MTX as the first choice with the patient is response to their criteria.

Pharmacological treatment MTX was used in 7 patients, of those patients 6 cases were treated successfully ratio of 85.71% and just one case needed to be further treated laparoscopically salpingectomy ratio of 14.29%.

Laparoscopic management is the gold standard, for further investigation or treatment due to reduction of the time of the surgery, the reduction of the amount of blood loss, fewer analgesics for the patient in the post-surgery and less duration of hospitalization, in 217 patients were operated laparoscopically they representing 98.64% of

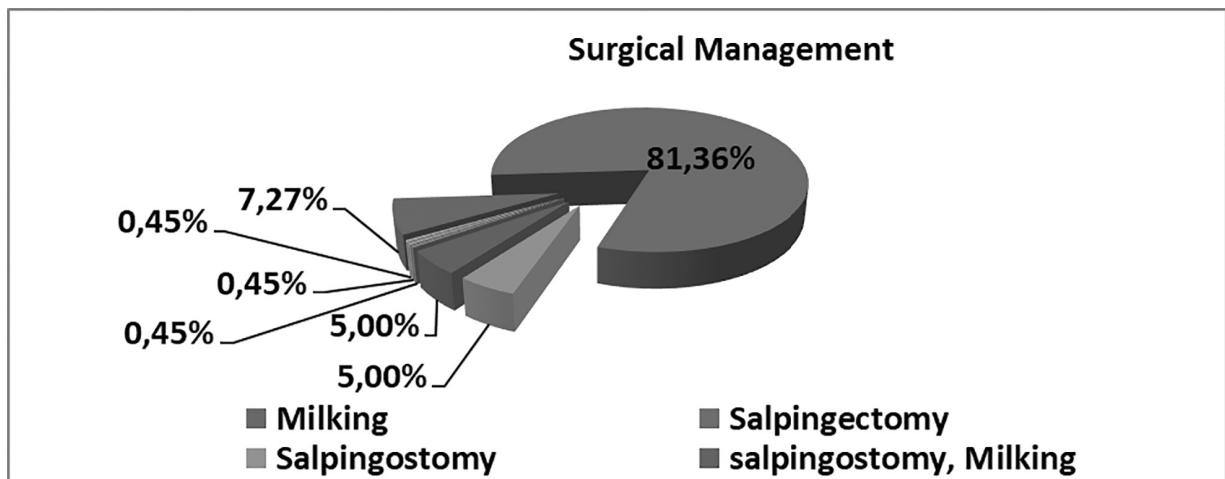


Figure 5. The surgical that Ectopic pregnancies were managed with.

the 220 patients that have a surgical management, just in two cases laparotomy was performed which represent the ratio of 0.91%, and a single case of cervical EP was preformed vacuum aspiration that represent 0.45% in ratio.

Surgical management was the first choice of majority of EP, 220 patients had done various surgical treatments, and majority of those patients 179 in number that represented 81.36% in ratio treated Salpingectomy, other group with 16 patients in number done milking they represent 7.27% in ratio, two groups with same number of patients done (Salpingostomy) and (Salpingostomy, Milking) with 11 patients in number for each one of them and they representing 5.00% for each one of them, the remain 3 patients had done cornual resection, ovarian resection, cervical Aspiration and each one of them represent 0.45% in ratio.

measure serum  $\beta$ hCG levels until a negative result, patients may need a further treatment, trophoblast resistance and the most important is the recurrence of EP. In the 220 patients that were treated surgically the big numbers of them 179 patients which representing 81.36% in ratio treated with Non-conservative method and the remaining 41 patients which representing 18.64% were treated with conservative method.

For any surgical management present the risk of bleeding, the amount of bleeding in our patients were quantified, just in 159 patients was determined the bleeding amounts, the lowest amount was 80ml for one patient which represent 0.63% and largest amount which was detected in one patient 2000ml that represent 0.63%, in majority of those patients that were analyzed 149 patients had an amount of blood loss of quantity until 500ml and they represent 93.71% of the 159 patient.

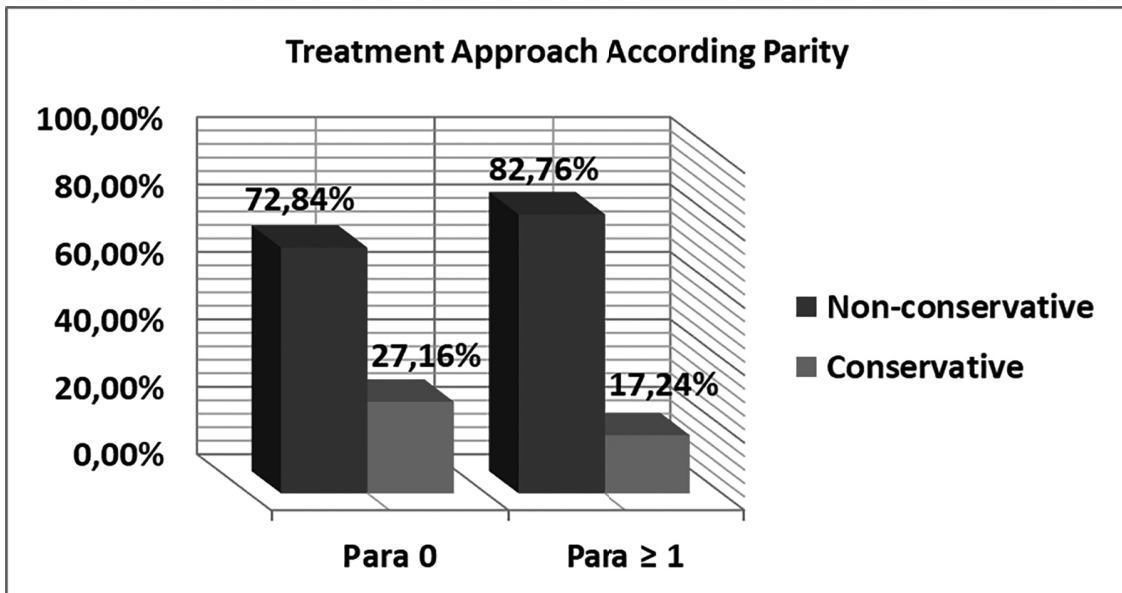


Figure 6. Conservative and Non-conservative approach comparison with parity of the patients, expressed by percentage.

Non-conservative approach is superior to a conservative in the presence of patient with a healthy contralateral tube. As we showed due to many studies in the first chapter that conservative management isn't the preferred management due to the needed follow up weekly and

The graph below show that 81 patients have not given birth yet, 59 patients corresponding to 72.84% have reserved non-conservative treatment (salpingectomy) and 22 patients representing 27.16% have reserved conservative treatment (pharmacological treatment, salpingostomy,

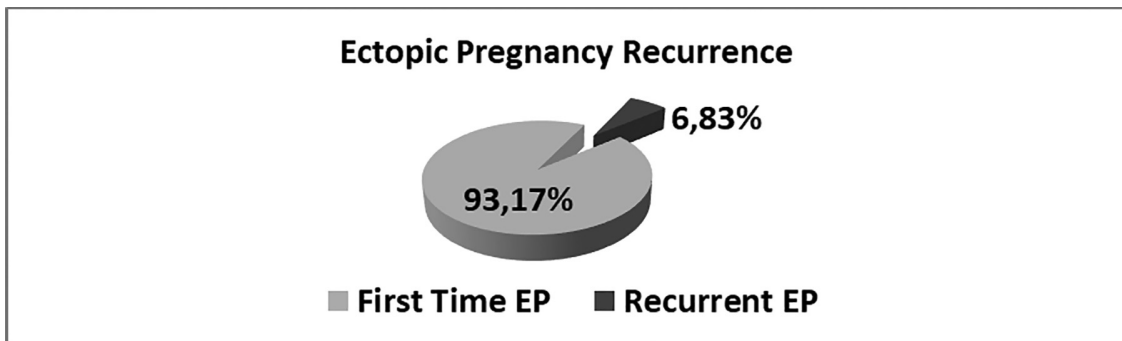


Figure 7. Ectopic Pregnancy Recurrence

milking). In cooperation to patients with one or more parity the conservative treatment represents just 17.24% which is less than patients who didn't give birth yet and non-conservative was higher than patients who didn't give birth and it was 82.76%.

For the total numbers of pregnancies for all patients even those who end with birth or abortion, we had in total 615 pregnancies for total 226 patients. the cases of previous EP

The doctors provide them with all the options available while highlighting the complications and side effects that can occur due to the different types of management.

The protocols of the four countries are believes in the laparoscopic approach due to reduction of the time of the surgery, the reduction of the amount of blood loss, fewer analgesics for the patient in the post-surgery and less duration of hospitalization.

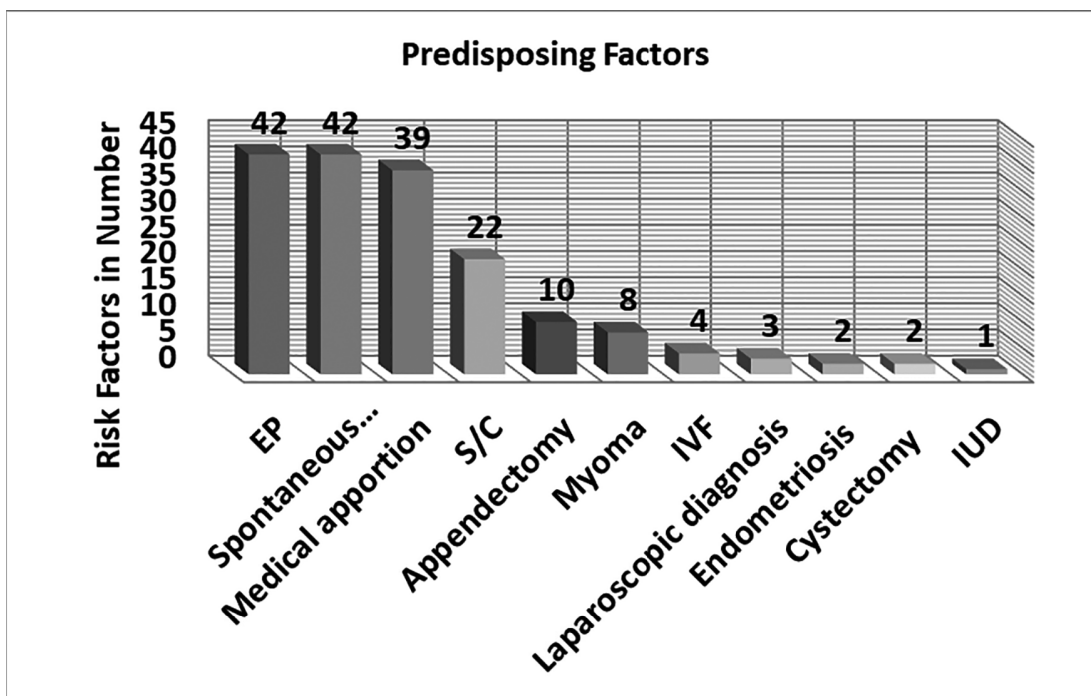


Figure 8. Predisposing Factors

was 42 case in number from all of those 615 pregnancies, the 42 cases were to different patients with various ages and various historical diseases and number of pregnancies, from total number of pregnancies was excluded the number of previous EP, in total 573 pregnancies that they end with birth or abortion of different cause excepting previous EP representing 93.17%, where 42 cases representing 6.83% of the recurrence of EP.

In this graph were analyzed different risk factor for EP and were found that 42 patients have previous EP also 42 patients have spontaneous apportion, in addition 39 patients have medication induced apportion, 22 patient cesarean operation in the past, 10 have undergo appendectomy, in addition to other risk factors mentioned in the graph. **Notably** some patients have more than one risk factor.

### Conclusion

Ectopic pregnancy continues to be an important cause of maternal morbidity and mortality of the first trimester of pregnancy world-wide.

According to the protocols of United Kingdom, the United States, Romania and Israel, the patient has the right to decide the method of management for their ectopic pregnancy.

### Bibliography

1. Jacob L., M. Kalder и K. Kostev, «Risk factors for ectopic pregnancy in Germany a retrospective study of 100,197 patients,» GMS German Medical Science, т. 15, 19 12 2017.
2. Creanga A. A, C. K. Shapiro-Mendoza, C. L. Bish, S. Zane, C. J. Berg и W. M. Callaghan, «Trends in ectopic pregnancy mortality in the United States: 1980-2007,» Obstetrics and Gynecology, т. 117, № 4, pp. 837-843, 4 2011.
3. Drife J., «Why Mothers die \_ Royal College of Physicians of Edinburgh,» 2005.
4. Khan K. S., D. Wojdyla, L. Say, A. Metin Gülmezoglu и P. F. A Van Look, «Articles WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review,» www.thelancet.com, т. 367, 2006.
5. Wakankar R. и K. Kedar, «Ectopic Pregnancy-A rising Trend,» International Journal of Scientific Study, 2015.
6. Shaw J. L, S. K. Dey, H. O. Critchley и A. W. Horne, Current knowledge of the aetiology of human tubal ectopic pregnancy, т. 16, 2010, pp. 432-444.
7. Al-Azemi M., B. Refaat, S. Amer, B. Ola, N. Chapman и W. Ledger, «The expression of inducible



- nitric oxide synthase in the human fallopian tube during the menstrual cycle and in ectopic pregnancy,» *Fertility and Sterility*, т. 94, № 3, pp. 833-840, 8 2010.
8. Shao R., Y. Feng, S. Zou, B. Weijdegård, G. Wu, M. Brännström и H. Billig, «The role of estrogen in the pathophysiology of tubal ectopic pregnancy,» 2012.
  9. Shaw J. L. и A. W. Horne, The paracrinology of tubal ectopic pregnancy, т. 358, pp. 216-222, 2012.
  10. Shaw J. L., P. Fitch, J. Cartwright, G. Entrican, J. Schwarze, H. O. Critchley и A. W. Horne, «Lymphoid and myeloid cell populations in the non-pregnant human Fallopian tube and in ectopic pregnancy,» *Journal of Reproductive Immunology*, т. 89, № 1, pp. 84-91, 4 2011.
  11. Brunham R. C., S. L. Gottlieb и J. Paavonen, Pelvic inflammatory disease, т. 372, Massachusetts Medical Society, pp. 2039-2048, 2015.
  12. Mol F., A. Strandell, D. Jurkovic, T. Yalcinkaya, H. R. Verhoeve, C. A. Koks, P. J. van der Linden, G. C. Graziosi, A. L. Thurkow, A. Hoek, L. Hogström, I. Klinte, K. Nilsson, N. M. van Mello, W. M. Ankum, F. van der Veen, B. W. Mol и P. J. Hajenius, «The ESEP study: Salpingostomy versus salpingectomy for tubal ectopic pregnancy; the impact on future fertility: A randomised controlled trial,» *BMC Women's Health*, т. 8, 26 6 2008.
  13. Van Eyk N., J. van Schalkwyk, M. H. Yudin, V. M. Allen, C. Bouchard, M. Boucher, S. Caddy, E. Castillo, D. M. Money, K. E. Murphy, G. Ogilvie, C. Paquet и V. Senikas, «Antibiotic Prophylaxis in Gynaecologic Procedures,» *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*, т. 34, № 4, pp. 382-391, 2012.
  14. Joyce J., J. Langsjoen, C. Sharadin, T. J. Kuehl и W. I. Larsen, «Inappropriate use of antibiotics in patients undergoing gynecologic surgery,» *Baylor University Medical Center Proceedings*, т. 30, № 1, pp. 30-32, 11 12 2017.

## REVIUL LITERATURII

© Valeriu Pădure, Igor Opalco

VALERIU PĂDURE, IGOR OPALCO

### IMPACTUL BOLILOR NETRANSMISIBILE ASUPRA NAȘTERII PREMATURE

**Bolile netransmisibile** (BNT) sunt cauza principală a deceselor la nivel global, regional și național. În UE, bolile netransmisibile, cum ar fi bolile cardiovasculare, cancerul, afecțiunile respiratorii cronice și diabetul, reprezintă o cauză majoră în ceea ce privește invaliditatea, starea de sănătate precară, pensionarea pe caz de boală și moarte prematură, acest lucru având consecințe sociale și economice considerabile. Potrivit Organizației pentru Cooperare și Dezvoltare (OCDE), în fiecare an în UE circa 550 000 de persoane în vârstă de muncă mor prematur din cauza unei boli netransmisibile. Acestea sunt principala cauză de mortalitate în UE, reprezentând cea mai mare parte a cheltuielilor de asistență medicală - 115 miliarde EUR anual la nivelul UE, cu alte cuvinte 0,8% din PIB-ul anual<sup>1</sup>.

Regiunea Europeană are cea mai mare povară a bolilor netransmisibile la nivel mondial. Șase din zece decese la nivel mondial și opt din zece decese în Regiunea Europeană, con-

sibile în cadrul țării și între țări demonstrează că potențialul cu efect benefic pentru sănătate este încă enorm<sup>1</sup>.

Schimbările dramatice ale mediului și ale stilului de viață din epoca modernă reprezintă o amenințare semnificativă pentru sănătatea umană. O creștere fără egal a unei game variate de boli cronice netransmisibile (BNT) este una dintre provocările globale majore ale secolului XXI. Atenția dominantă a agendei BNT este, de obicei, pe „cei patru mari”: boli cardiovasculare, boli metabolice (obezitate și diabet de tip 2), cancer și boli pulmonare cronice. Aceasta trebuie recunoscută ca un element major al agendei mai largi de sănătate publică, cu eforturi puternice pentru promovarea sănătății imune ca parte integrantă a prevenirii BNT<sup>2</sup>.

*Povara bolilor netransmisibile în Republica Moldova.*

Republica Moldova are în total 3.542.700 locuitori<sup>3</sup>. 57,3% din populație locuiește în mediul rural. 50% din populație are vârsta cuprinsă între 30 și 70 de ani, în timp ce 17% are vârsta mai mică de 15 ani. Speranța de viață la naștere este de 72,3 ani (2020)<sup>4</sup>.

Prevalența acestui grup de boli în țară este foarte mare - mai mult de jumătate din populație suferă de boli netransmisibile, inclusiv de boli cardiovasculare, cancer, boli respiratorii cronice, boli digestive și diabet<sup>5</sup>.

*Influența bolilor netransmisibile asupra fenomenului de prematuritate.*

Mai mult de un copil din 10 dintre copiii născuți în 2019 s-au născut prematur (definiți ca înainte de 37 de săptămâni de gestație), ceea ce a dus la un procent estimat de 14,9 milioane de nașteri premature<sup>6</sup>. Dintre aceștia, peste un milion au murit ca rezultat direct al prematurității lor<sup>7</sup>. Nașterea moderat prematură cu sau fără restricție de creștere a fătului a acționat ca factor de risc pentru un milion suplimentar de decese neonatale din cauze precum infecții<sup>6</sup>. Prematuritatea este acum a doua cauză principală de deces la copiii sub 5 ani și cea mai importantă cauză directă de deces în prima zi critică de viață. Pentru bebelușii care supraviețuiesc, mulți se confruntă cu o viață de invaliditate semnificativă<sup>6</sup>. Nașterea prematură reprezintă 3,1% din toți anii de viață reglați cu handicap (DALY) în sarcina globală a bolii, mai mult decât pentru HIV și malarie<sup>6</sup>. Având în vedere frecvența nașterilor premature la nivel mondial, este probabil că majoritatea oamenilor vor experimenta tragedia nașterii premature la un moment dat în viața lor, fie în membrii familiei, fie indirect prin prieteni.

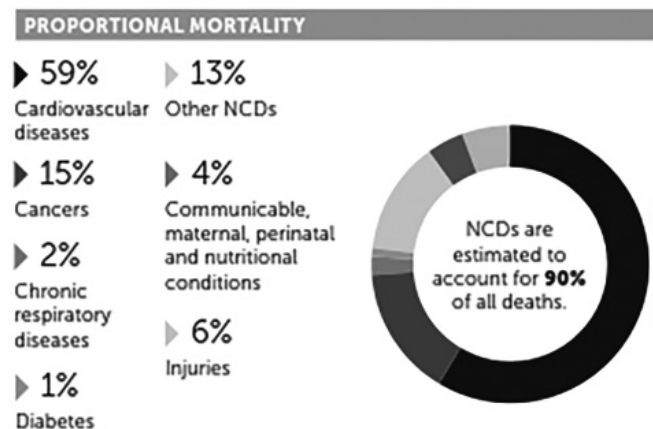


Figura 1. Rata proporțională a cauzelor mortalității în R. Moldova

form relatărilor OMS sunt cauzate de bolile netransmisibile. Doua grupuri de boli - bolile cardiovasculare și cancerul - cauzează aproape trei sferturi din mortalitatea din Regiunea Europeană, iar trei grupuri principale de boli - bolile cardiovasculare, cancerul și tulburările mintale - sunt cauza a peste jumătate din povara bolilor (măsurată în ani de viață ajustați prin factorul de invaliditate - Disability Adjusted Life - Years (DALY)). Mortalitatea prematură poate fi evitată: estimările indică faptul că cel puțin 80% din toate cazurile de boli cardiace, accidente vasculare cerebrale și diabet zaharat de tip II și cel puțin o treime din cazurile de cancer pot fi prevenite. Inegalitatea între povara bolilor netransmi-

Implicațiile nașterii se extind prea curând dincolo de perioada neonatală de-a lungul întregului ciclu de viață. Bebelușii care se nasc înainte de a fi pregătiți fizic să înfrunte lumea necesită adesea îngrijiri speciale și se confruntă cu riscuri mai mari de probleme grave de sănătate, inclusiv paralizie cerebrală, deficiență intelectuală, boli pulmonare cronice și pierderi de vedere și auz<sup>8</sup>. Există legături bidirecționale între nașterea prematură, greutatea scăzută la naștere și bolile netransmisibile (BNT), cum ar fi diabetul și hipertensiunea. În primul rând, femeile cu aceste BNT prezintă un risc ridicat de a avea un copil cu greutate mică la naștere din cauza prematurității sau a altor cauze, solicitând o atenție sporită asupra sănătății materne și de îngrijire, inclusiv diagnosticul antenatal și managementul bolilor bolnave de cancer<sup>6</sup>. La rândul lor, copiii prematuri prezintă un risc mai mare de a dezvolta afecțiuni cardiace precum hipertensiunea arterială și diabetul mai târziu în viață și, dacă sunt de sex feminin, de a avea un copil prematur și / sau cu un nivel scăzut de naștere. Noi, prematuritatea nu numai că afectează direct un nou-născut, dar poate duce și la un ciclu vicios intergenerațional de risc<sup>9</sup>. Legătura dintre prematuritate și un risc crescut de hipertensiune arterială, diabet și alte BNT-uri are o importanță adăugată pentru sănătatea publică atunci când sunt luate în considerare creșterile raportate ale ratelor bolilor bolnavilor de cancer la nivel mondial<sup>10</sup>. În cazul în care diabetul pre-gestațional și hipertensiunea arterială au raportat creșterea riscului de naștere prematură, este clar că problema nașterii premature ar trebui să fie o preocupare majoră pentru factorii de decizie, organizațiile donatoare și alți participanți<sup>11</sup>.

Nașterea prematură contează ca o problemă de sănătate publică, primind o prioritate ridicată de sănătate publică. Precursorii variază în funcție de vârsta gestațională, iar cauza precisă a travaliului preterm spontan fiind neidentificată până la jumătate din toate cazurile. Mulți alți factori materni au fost asociați cu un risc crescut de naștere prematură spontană, incluzând vârsta maternă tânără sau avansată, intervale scurte de sarcină, indice de masă corporală scăzută (IMC), sarcină multiplă, *boală ne-transmisibilă preexistentă*, boală hipertensivă a sarcinii și infecții. Dovezile observaționale ale unei legături între viața timpurie și boala ulterioară au dus la un interes pentru influențele materne asupra dezvoltării fătului<sup>12</sup>. Starea nutrițională a unei fete sau a unei femei influențează rezultatele atât pentru sarcină cât și pentru fătul în curs de dezvoltare<sup>13</sup>. Alimentația maternă slabă poate crește riscul rezultatelor adverse ale sarcinii. De asemenea, are o influență puternică asupra riscului de naștere prematură și a creșterii și dezvoltării afectate în utero și după naștere<sup>14</sup>. În India, de exemplu, descoperirile nutriției materne a studiului Pune sugerează că deficiențele de micronutrienți (cum ar fi vitamina B12) pot duce, de asemenea, la o greutate scăzută la naștere și un risc crescut de diabet ulterior<sup>14</sup>.

Supraalimentarea maternă poate fi de asemenea dăunătoare atât mamei, cât și fătului. Pentru femei în timpul sarcinii, supranutriția duce la un risc mai mare de diabet gestațional și tulburări hipertensive ale sarcinii<sup>14</sup>. Pentru făt, diabetul gestațional matern duce la un risc crescut de

macrosomie, glicemie ridicată și insulină și acestea sunt asociate cu hipoglicemie neonatală, anomalii congenitale, naștere prematură, mortinatalitate și moarte neonatală. Există, de asemenea, dovezi că femeile obeze acumulează mai mulți metaboliți în foliculii lor ovarieni și acest lucru a fost asociat cu un risc crescut de boli cardiovasculare și obezitate în viața ulterioară în urmașii lor<sup>15</sup>.

### **Epigenetica - mecanism de supraviețuire a organismelor într-un mediu imprevizibil și în schimbare.**

Apariția *epigeneticii* permite explorarea mecanismelor moleculare care leagă expunerile timpurii de boala ulterioară. Modificarea epigenetică nu rezultă din modificările secvenței bazelor în ADN-ul propriu-zis, ci din schimbările la expresia genelor, care este mediată de metilarea ADN-ului, modificarea cromatinei sau ARN-uri mici ne-codificatori ca răspuns la mediul în care se dezvoltă fătul. Mecanismele epigenetice stau la baza plasticității dezvoltării, care este fundamentală pentru legătura dintre dezvoltarea fetală și riscul de boală ulterioară<sup>16</sup>. Există dovezi că factorii materni pot modula expresia genelor în urmașii lor, astfel influențându-se. De exemplu, malnutriția maternă a dus la modificarea metilării genelor și la un risc crescut de sindrom metabolic al descendenței în viața adultă. În plus, studii recente au arătat că expunerea prenatală la diabetul gestațional ar putea duce la modificări epigenetice care cresc riscul de diabet de tip 2 mai târziu în viață<sup>14</sup>.

Epigeneticul poate insera influență prin activarea și oprirea transcrierii genelor. Transcrierea este procesul prin care se face o copie ARN a unei gene și această copie ARN guvernează apoi aparatul celular pentru producerea unei proteine specifice. Adăugarea sau eliminarea unei grupe metil la o genă este o modalitate de influențare a acestui proces, dacă o anumită genă poate fi transcrisă în ARN și, prin urmare, dacă produce sau nu proteina corespunzătoare. Astfel, metilarea într-un grup de gene poate provoca modificări în multe procese biologice care apar în organism și afectează metabolismul, provocând cheltuieli de energie sau conservare. Acest proces ar putea fi, de asemenea, responsabil pentru aspecte mai specifice, cum ar fi culoarea ochilor sau a pielii. Descoperirea ARN-urilor mici care nu codifică a deschis un nou domeniu de microARN, care de asemenea joacă un rol important în epigenetică prin modificarea posttranscripțională a expresiei genice<sup>17</sup>. Epigenetica, în acest sens, poate fi înțeleasă și ca un mecanism prin care organismele pot supraviețui într-un mediu imprevizibil și în schimbare. Cea mai rapidă adaptare la mediu provine din cererea imediată de menținere a homeostaziei și a proceselor prin care organismul menține un mediu intern constant ca răspuns la schimbările externe, crescând adesea cheltuielile cu energia. Aceste procese sunt guvernate în principal de semnale hormonale și neuronale.

Conceptul esențial al „programării gestaționale” înseamnă că mediul nutrițional, hormonal și metabolic furnizat de mamă fătului ar putea modifica permanent structura și răspunsurile celulare ale diferitelor organe și să modifice expresia anumitor gene care în final afectează metabolismul și fiziologia urmașilor. Mai mult, aceste efecte variază în funcție de perioada de

dezvoltare și, ca atare, fetusii și nou-născuții (în creștere rapidă) sunt cei mai vulnerabili. Efectele asupra programării pot avea efecte imediate, de exemplu, deteriorarea creșterii organelor într-un stadiu critic, în timp ce alte efecte sunt întârziate și nu apar până mai târziu, dar care ar putea fi din nou mediat printr-un control epigenetic al expresiei genice, care implică modificarea genomului fără modificarea secvenței adecvate de ADN<sup>17</sup>.

Cunoștințele actuale ne permit să concluzionăm că perioada perinatală este o *fereastră de aur* pentru măsuri preventive menite să reducă impactul precondiționării epigenetice a BNT și, prin urmare, să reducem probabilitatea ca, atunci când nou-născuții o să ajungă la vârsta adultă, să dezvolte bolile menționate anterior. Cu toate acestea, fereastra critică de dezvoltare care oferă o oarecare plasticitate (sau pluripotență) poate varia de la organ la organ cu efecte diferite, în funcție de momentul în care are loc insulta și stadiul de dezvoltare a unui anumit organ<sup>18</sup>. Concentrarea pe îngrijirea preventivă a femeilor însărcinate are potențialul de a modifica mediul epigenetic al fătului. Prevenirea sau tratamentul optim al obezității, diabetului și hipertensiunii cronice la viitoarele mame întrerupe ciclul vicios al programării epigenetice a fătului, nu numai în sarcina actuală, ci și în viitoarea sarcină. Prin urmare, efortul de a oferi îngrijire prenatală adecvată, prevenirea sau tratarea afecțiunilor care afectează programarea epigenetică fetală, este probabil cea mai eficientă strategie de control al extinderii acestei mari pandemii de BNT-uri menționate mai sus.

### Bibliografie

1. OMS. Health 2020, A European policy framework and strategy for the 21st century. Published online 2020:190. [http://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0011/199532/Health2020-Long.pdf](http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0011/199532/Health2020-Long.pdf)
2. Prescott SL. Early-life environmental determinants of allergic diseases and the wider pandemic of inflammatory noncommunicable diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;131(1):23-30. doi:10.1016/j.jaci.2012.11.019
3. Anuarul statistic. Populația și structura demografică 2019. Published online 2019:35-56.
4. Moldova Demographics 2020. Published 2020. <https://www.worldometers.info/demographics/moldova-demographics/>
5. Maria Skarphedinsdottir, Barton Smith, Alessandra Ferrario, Olga Zues, Angela Ciobanu, Marcela Țirdea, Silviu Domete JH. Better noncommunicable disease outcomes: challenges and opportunities for health systems Republic of Moldova Country Assessment. Published online 2014. <http://www.euro.who.int/en/countries/republic-of-moldova/publications/better-noncommunicable-disease-outcomes-challenges-and-opportunities-for-health-systems.-republic-of-moldova-country-assessment-2014>
6. Requejo JH, Merialdi M, Althabe F, Keller M, Katz J, Menon R. Born Too Soon: Care during pregnancy and childbirth. *Reprod Health*. 2013;10(Suppl 1):1-15. <http://www.reproductive-health-journal.com/content/10/S1/S4>
7. Jung EY, Park KH, Han BR, Cho SH, Yoo HN, Lee J. Amniotic fluid infection, cytokine levels, and mortality and adverse pulmonary, intestinal, and neurologic outcomes in infants at 32 weeks' gestation or less. *J Korean Med Sci*. 2017;32(3):480-487. doi:10.3346/jkms.2017.32.3.480
8. Behrman RE, Butler AS. *Preterm Birth: Causes, Consequences, and Prevention*.; 2007. doi:10.17226/11622
9. Manzoni P, Baù MG, Farina D. Glucose regulation in young adults with very low birth weight [5]. *N Engl J Med*. 2007;357(6):616-617. doi:10.1056/NEJMc071640
10. UN General Assembly. Political Declaration of the High-level Meeting of the General Assembly on the Prevention and Control of Non-communicable Diseases. A/RES/66/2. *Un*. 2012;49777(January):1-13. doi:10.1007/BF03038934
11. Li Liu, Shefali Oza, Dan Hogan, Yue Chu, Jamie Perin, Jun Zhu, Joy E Lawn, Simon Cousens, Colin Mathers REB. Preterm delivery in women with pregestational diabetes mellitus or chronic hypertension relative to women with uncomplicated pregnancies. *Lancet*. 2016;388(6):3027-3035. doi:http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31593-8
12. Barouki R, Gluckman PD, Grandjean P, Hanson M, Heindel JJ. Developmental origins of non-communicable disease: Implications for research and public health. *Environ Heal A Glob Access Sci Source*. 2012;11(1):1-9. doi:10.1186/1476-069X-11-42
13. Gluckman P, Hanson M. The developmental origins of health and disease: An overview. *Dev Orig Heal Dis*. Published online 2006:1-5. doi:10.1017/CBO9780511544699.002
14. Baird J, Jacob C, Barker M, et al. Developmental Origins of Health and Disease: A Lifecourse Approach to the Prevention of Non-Communicable Diseases. *Healthcare*. 2017;5(1):14. doi:10.3390/healthcare50-10014
15. Robker RL, Akison LK, Bennett BD, et al. Obese women exhibit differences in ovarian metabolites, hormones, and gene expression compared with moderate-weight women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(5):1533-1540. doi:10.1210/jc.2008-2648
16. Hanson MA, Gluckman PD. Early developmental conditioning of later health and disease: physiology or pathophysiology? *Physiol Rev*. 2014;94(4):1027-1076. doi:10.1152/physrev.00029.2013
17. Roura LC, Arulkumaran SS. Facing the noncommunicable disease (NCD) global epidemic - The battle of prevention starts in utero - The FIGO challenge. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2015;29(1):5-14. doi:10.1016/j.bpobgyn.2014.04.018
18. Godfrey KM, Lillycrop KA, Burdge GC, Gluckman PD, Hanson MA. Epigenetic mechanisms and the mismatch concept of the developmental origins of health and disease. *Pediatr Res*. 2007;61(5 PART 2 SUPPL.):31-36. doi:10.1203/pdr.0b013e318045bedb

NATALIA BURSACOVSCAIA

## ROLUL FACTORILOR DE RISC AI MALADIILOR NONCOMUNICABILE ASUPRA DECESULUI INTRAUTERIN AL FĂTULUI

*IMSP Institutul Mamei și Copilului*

**Introducere.** În planul reproductiv în lume se conturează două tendințe. Pe de o parte, în țările înalt dezvoltate, femeile tot mai des fac alegere de a amâna nașterea primului copil până la vârsta de 35-40 de ani și peste cu dorința de a construi cariere de succes și de a avea oportunități egale pe piața locurilor de muncă, precum și pentru a atinge stabilitatea financiară. Pe de altă parte, în țările cu resurse mai mici, este răspândită multiparitatea la o vârstă avansată din cauza metodelor ineficiente de planificare familială și favorizării culturale către o dimensiune mare a familiei [1]. Organizația Mondială a Sănătății (OMS), studiind problema maladiilor noncomunicabile, atenționează că, anual, din cauza acestor maladii decedază peste 15 mln. de persoane cu vârsta debutând de la 30 ani [2]. Astfel, problema maladiilor noncomunicabile afectează și femeile în perioada reproductivă activă cu consecințe perinatale nefavorabile, una dintre care fiind nașterea unui copil mort.

Conform recomandărilor OMS, factorii de risc ai maladiilor noncomunicabile pot fi grupați în factori modificabili comportamentali și factori metabolici. Factorii comportamentali sunt: tabagismul, activitatea fizică insuficientă, dieta inadecvată și alcoolismul. Factorii metabolici sunt: supra ponderitatea/obezitatea, hiperlipidemia, hipertensiunea arterială și hiperglicemia [2].

### Factorii de risc comportamentali

*Rolul tabagismului în decesul intrauterin al fătului.* Consumul de tutun este principalul factor de risc prevenibil al avortului spontan, mortinatalității și decesului neonatal [3, 4]. Alte efecte negative sunt că fumatul în rândul gravidelor crește rata nașterii premature, se reflectă asupra restricției de creștere intrauterină a fătului și a anomaliilor congenitale [3].

În fumul de tutun cele mai periculoase substanțe chimice sunt considerate nicotina și monoxidul de carbon. Este de remarcat faptul că nicotina, care are proprietatea de a pătrunde în placentă, se găsește în sângele circulant al fătului și lichidul amniotic în concentrații cu 15% și, respectiv, 54% mai mari, decât în sângele matern [19]. Fumatul în cazul unei femei însărcinate contribuie la vasospasm uterin cu încetinirea fluxului sangvin utero-placental, care durează aproximativ 20-30 minute după o țigară fumată, poate duce la suprimarea mișcărilor respiratorii ale copilului în uter. Nicotina din sângele fătului duce la

retenție de creștere intrauterină și nașterea unui făt cu greutate mică [5]. Astfel, unul dintre principalele mecanisme care determină restricția de creștere intrauterină este rezistența crescută a fluxului de sânge din cordonul ombilical [6]. Dereglarea fluxului sangvin utero-placental este agravată și de efectul toxic al monoxidului de carbon, care are o afinitate de 250 de ori mai mare pentru hemoglobină, în comparație cu oxigenul. În acest sens, la fumat, există o creștere a nivelului de carboxihemoglobină din sângele gravidei, corelându-se cu numărul de țigări fumate. Scăderea conținutului de oxigen duce la dezvoltarea hipoxiei preplacentale [7]. Morfologic, tabagismul duce la invazia anormală a citotrofoblastului în primul trimestru de sarcină. Cercetările histologice ale placentei demonstrează că fumatul provoacă îngroșarea membranei bazale trofoblastice, creșterea colagenului în mezenchimul vilar, mai puțin neovascularizare și edemul semnificativ al arteriolelor viloase [8].

Femeile care fumează ar trebui să fie sprijinite să renunțe cât mai devreme în sarcină la acest obicei și să fie informate că există avantaje de renunțare înainte de a 15-a săptămână de sarcină [9]. Astfel, un grup de cercetători din Danemarca, care au analizat 841228 de nașteri cu un singur făt, au calculat că tabagismul este factorul de risc al mortinatalității (RP=1,42, 95% ÎI 1,30-1,55), atât pentru decese antenatale (RP 1,38, 95% ÎI 1,25-1,53), cât și pentru cele intranatale (RȘ =1,52, 95% ÎI 1,18-1,96). Totodată, femeile care au renunțat la fumat cel târziu la începutul celui de al doilea trimestru nu au avut un risc crescut pentru decesul intrauterin al fătului (RȘ=1,03, 95% ÎI 0,80-1,32) [10].

Până de curând, nu s-a știut cu exactitate dacă fumatul pasiv influențează asupra rezultatului nefavorabil al sarcinii. Răspuns la această întrebare a prezentat colaboratorul științific din Canada Yaya S. în comun cu Bishwajit G. din China. Ei au investigat 5540 de gravide, dintre care 50,3% fuseseră supuse fumatului pasiv ca urmare a tabagismului unor membri de familie. Riscul decesului intrauterin la acest contingent de paciente a fost moderat (RP =1, 321, 95% ÎI=1,15-1,52) [11].

*Alcoolismul și mortinatalitatea.* Alcoolul este cel mai frecvent întâlnit factor teratogen în timpul sarcinii, prevalența globală a consumului de alcool în sarcină atinge 10% [12, 13, 14]. Una din ipotezele ce explică mecanismele care conduc la decesul intrauterin al fătului în ca-

zul consumului excesiv de alcool este apariția disfuncției placentare. Modelele pe animale au demonstrat scăderea fluxului sangvin și creșterea coagulării intravasculare în interiorul placentei. Alte efecte alcoolului includ modificări hipoglicemice și creșterea eliberării prostaglandinelor care scade diviziunea celulară și, în final, duce la decesul intrauterin al fătului [12].

Asocierea între alcoolism și decesul intrauterin al fătului au demonstrat-o cercetătorii din Etiopia în frunte cu Tasew H. (RP=7.56, 95% ÎI 1.68-34.04) [15].

*Dieta inadecvată a gravidei și riscul decesului intrauterin al fătului.* Doi indicatori importanți ai nutriției materne sunt indicii de masă corporală (IMC) și anemia, ambii putând afecta sănătatea unei mame. Prevalența malnutriției materne variază de la 20% în Africa sub-sahariană și America de Sud/ Centrală la aproximativ 40% în India [16]. Gravidele anemice și cu masa corpului insuficientă (IMC < 18 kg/m<sup>2</sup>) au un risc moderat de deces intrauterin al fătului (RȘ=1.5, ÎI 95% 1.2-1.8), fapt demonstrat de către cercetătorii din India în frunte cu Patel A., care au monitorizat prospectiv 72750 de femei gravide în decurs de 8 ani [17]. O opinie contrară împărtășesc cercetătorii din Japonia, care au stabilit că IMC < 18 kg/m<sup>2</sup> poate să aibă și un efect de protecție (RR ajustat = 0,82, ÎI 95% 0,69-0,97). Autorii au motivat efectul protectiv prin prevalența mai mică a altor complicații la aceste gravide, cum ar fi preeclampsia și intervențiile în timpul travaliului [18].

Alimentația incorectă a mamei poate influența asupra rezultatelor perinatale, însă nu întotdeauna în mod direct. De exemplu, cercetătorii din SUA au demonstrat că dieta femeilor cu conținut scăzut de carbohidrați poate crește riscul de apariție a defectelor de tub neuronal la făt, în special în rândul gravidelor care nu folosesc suplimentar acid folic în sarcină (RȘ ajustat = 1.30, 95% ÎI 1.02 -1.67) [19]. Limitarea consumului de carbohidrați a produselor care sunt îmbogățite cu acid folic în stadiul de producție (de ex. pâinea) are ca urmare deficitul de acid folic.

*Activitatea fizică și mortinatalitatea.* În ceea ce privește factorii de risc modificabili, activitatea fizică intensă de ≥3 ore pe săptămână este asociată cu un risc crescut, în timp ce activitatea fizică ușoară de ≥3 ore pe săptămână este asociată cu un risc redus de mortinatalitate. Studiarea acestui factor de risc s-a efectuat prin intermediul unui sondaj de sănătate organizat în Norvegia. Ca activitate fizică intensă s-a considerat acea activitate care duce la transpirații și dificultăți de respirație [20].

### **Influența factorilor de risc metabolici asupra rezultatului nefavorabil al sarcinii**

*Hipertensiunea și mortinatalitatea.* Printre cauzele materne ale decesului intrauterin hipertensiunea ocupă primul loc. La această concluzie au ajuns cercetătorii din New Delhi după analiza a 1239 de cazuri de mortinatalitate. S-a calculat că o pătrime din toate decesele intrauterine (304/1239, 24.9%) se datorau stărilor hipertensive în sarcină a le mamei [21]. La rândul său Dudley D. și colab.

din SUA a demonstrat că hipertensiunea este una dintre cauzele decesului intrauterin al fătului, totodată riscul corelează cu greutatea maternă (gravide normoponderale - 4,4%, gravide supraponderale - 12,7%, gravide obeze - 12,9 %, p=0,006) [22]. Rezultate similare a obținut Yao R. și colab.: cu creșterea indexului masei corporale la pacientele hipertensive crește riscul mortinatalității, numărul maxim de decese intrauterine atestându-se la termenul de sarcină 40-42 săpt. [23]. Iriza Zile și colab. din Riga, în urma analizei cazurilor de mortinatalitate în Letonia în decurs de 13 ani, a stabilit că hipertensiunea preexistentă sarcinii triplează riscul decesului intrauterin al fătului la termen cu RȘ= 3,1, ÎI 95% 1,6-6,0 [24]. Legătura causală dintre hipertensiunea arterială și mortinatalitatea a fost elucidată și de către grupul de cercetători din Etiopia în frunte cu Tasew H., care au calculat raportul probabilității acestei complicații, el fiind egal cu 12.83 , 95% ÎI - 3.38- 48.8 [15].

Cercetători științifici din China au analizat sub acest aspect baza de date, ce a inclus 6.970.032 de nașteri în anii 2012-2016, dintre care 66494 de nașteri cu feți morți. Rata mortinatalității a fost de 21,9 la 1000 de nașteri la femeile cu tulburare hipertensivă în sarcină și de 8,4 la 1000 la femeile normotensive. Interesant este faptul că pentru sarcina la termen (37 de săptămâni de gestație și peste) rata a fost semnificativ mai mare la femeile cu tulburare hipertensivă, decât la femeile normotensive [25].

*Hiperglicemia și mortinatalitatea.* Diabetul zaharat preexistent sarcinii este un factor de risc al mortinatalității independent de obezitate, fapt demonstrat de către Browne și colab. Rata de mortinatalitate a crescut considerabil la gravidele cu diabet preexistent - până la 119,9 la 10 000 de sarcini în grupul gravidelor cu greutate normală și 209,8 la 10 000 sarcini în grupul celor cu obezitate morbidă. Comparativ cu sarcinile nondiabetice cu greutatea normală, raportul general de risc ajustat (aHR) de mortinatalitate asociat cu obezitatea morbidă fără diabet zaharat preexistent a fost de 1,57 (ÎI 1,38-1,79) [26]. Este cunoscut faptul că la femeile însărcinate cu o sarcină fiziologică se poate observa hiperinsulinemie și o scădere a secreției de insulină de către celulele β-pancreatice. Factorul obezitate în timpul sarcinii condiționează un risc ridicat de formare a insulinoresistenței și diabetului zaharat de tip 2 [27].

Cercetătorii din Baltimore, în frunte cu Ruofan Yao, au analizat 3.279.846 de nașteri, inclusiv 11.023 cazuri de mortinatalitate (0,34%). Ei au demonstrat că, în comparație cu pacientele nondiabetice normoponderale, atât obezitatea, cât și diabetul zaharat sporesc riscul decesului intrauterin al fătului. Pentru pacientele cu diabet zaharat preexistent sarcinii crește semnificativ riscul mortinatalității la termenul de sarcină 37-39 săpt. (RȘ= 9,32, ÎI 95% 5,58-15,57). Totodată la pacientele diabetice cu obezitate, inclusiv de gradul I, acest risc crește semnificativ (RȘ= 24,89, ÎI 95% 18,99-32,62) [28].

În Letonia, unde nașterile se înregistrează de la 22 săpt., s-a efectuat o analiză retrospectivă a 294355 de nașteri în-

cluse în Registrul Medical al Nașterilor în anii 2001-2014. S-a calculat că riscul decesului intrauterin la femeile gravide diabetice este practic triplu ( $R\text{Ș}=2,5$ ,  $I\text{Î}$  95% 1,6-2,5). Rata mortinatalității în această țară europeană nu are o tendință de scădere stabilă și, în ultimii 10 ani, este de aproximativ 5 la 1000 (5,7 în 2017) [24].

Gravidele cu hiperglicemie *a'jeun*, dar cărora clinic nu li s-a stabilit diagnosticul de diabet zaharat gestațional, prezintă un risc potențial evitabil de deces intrauterin al fătului în stadiile avansate de sarcină. La această concluzie a ajuns un grup de cercetători din Marea Britanie în frunte cu Stacey T. prin intermediul studiului prospectiv de tip caz-control. Colaboratorii științifici au analizat 291 de cazuri de mortinatalitate în termenul  $\geq 28$  săptămâni de gestație, în comparație cu 733 de sarcini în evoluție la momentul interviului. Astfel, femeile cu hiperglicemie *a'jeun* care nu au fost diagnosticate cu diabet zaharat gestațional, au prezentat un risc de patru ori mai mare de terminare a sarcinii cu un caz de mortinatalitate, comparativ cu pacientele normoglicemice ( $R\text{Ș}$  4,22,  $I\text{Î}$  95% 1,04-17,02). De menționat că gravidele cu hiperglicemia *a'jeun* diagnosticate cu diabet zaharat gestațional nu au înregistrat o astfel de creștere a riscului de mortinatalității ( $R\text{Ș}$  1,10,  $I\text{Î}$  95% 0,31-3,91), cel mai probabil datorită unui management mai atent al sarcinii [29].

Un alt grup din cercetători din Marea Britanie (Mackin T. și colab.) a analizat nivelele de hemoglobină glicată HbA1c în perioada prenatală și în timpul sarcinii, greutatea maternă, masa și sexul fătului într-o cohortă de paciente cu diabet zaharat de tipurile I și II. Rata mortinatalității la acest contingent a fost înaltă (16,1 și 22,9 la 1000 de nașteri, respectiv). Pentru pacientele cu diabet zaharat de tip I riscul decesului intrauterin al fătului a fost sporit în cazul hemoglobinei glicate mărite atât prenatal, cât și în sarcină tardivă, pe când pentru gravidele diabetice de tipul II acest risc a fost mai mare în prezența IMC sporit și HbA1c prenatale majorate. La acest contingent de paciente crește riscul de mortinatalității de 3-6 ori pentru feții cu greutate mică la naștere (<10 centile). Pentru gravide cu diabet de tip II sexul masculin a fost un factor de risc al decesului intrauterin al fătului (81,1% vs 50,5% născuți vii,  $p = 0,0002$ ) [30].

**Obezitatea, hiperlipidemia și decesul intrauterin al fătului.** Unii cercetători consideră că până la 25% din decese intrauterine între 37 și 42 săptămâni de sarcină sunt legate cu obezitatea [31]. Mecanismele influenței obezității asupra decesului intrauterin al fătului rămân necunoscute. Totodată, se presupune că această asociere este potențată de către leziuni placentare. Prezența obezității și a rezistenței la insulină înainte de sarcină sau creșterea excesivă în greutate în timpul sarcinii este asociată cu scăderea migrației citotroblastului și apariția remodelării arterelor intrauterine care, la rândul lor, provoacă hipoxie și ischemie placentară [27]. Mediul matern obez se caracterizează prin hiperlipidemie și o stare exagerată de inflamație și stres oxidativ, în comparație cu sarcina normală. Inflamația intensificată și stresul oxidativ / ni-

trativ se găsesc în asociere cu disfuncția placentară [31]. S-a dovedit rolul important al modificărilor inflamatorii asociate cu activitatea neurohumorală a țesutului adipos visceral cu risc de dezvoltare a hipertensiunii arteriale gestaționale și a disfuncției endoteliale, care joacă un rol important în apariția preeclampsiei [32] (fig.1).

Donald Dudley și colab. au studiat 477 cazuri de mortinatalitate comparativ cu 1132 de nașteri cu născuții în 59 de spitale ale SUA, în decurs de 2 ani. Grupul de autori a demonstrat că într-adevăr există asociere între mortinatalitate și supraponderitate ( $R\text{Ș} = 1,38$ ,  $I\text{Î}$  95% 1,05-1,83), precum și cu obezitatea ( $R\text{Ș}=1,5$ ,  $I\text{Î}$  95% 1,14-1,97). Ei n-au constatat însă modificări placentare specifice ce ar evidenția asocierea indexului masei corporale sporit cu mortinatalitatea [22].

Maria C. Adank și colab. din Centrul Medical Universitar Rotterdam, Olanda, 2019, au testat următoarea ipoteză: profilul lipidic aterogen crește oare riscul de deteriorare endotelială prin mecanismele de stres oxidativ din peretele vasului arterial? Endoteliul disfuncțional poate duce la hipertensiune gestațională și/sau prehipertensiune. Cercetătorii au determinat profilul lipidic desfășurat la 5690 de femei gravide în cadrul studiului prospectiv de cohortă "Generation R", la termenul de 13,4 săpt. De sarcină mediu. Trigliceridele și colesterolul restant în sarcina timpurie au fost asociate pozitiv cu preeclampsia. Nivelurile lipidelor materne în sarcina timpurie nu au fost asociate cu hipertensiunea gestațională. Totodată, colesterolul total, lipoproteinele de densitate scăzută și, în special, trigliceridele și colesterolul restant au fost asociate pozitiv cu tensiunea arterială în sarcină și la 6 și 9 ani după sarcină [33].

Unii cercetători consideră că asocierea între obezitate și mortinatalitate poate fi depistată prin intermediul markerilor inflamatori. Corioamionita, confirmată histologic, a fost mai frecventă în rândul femeilor cu deces intrauterin al fătului, în comparație cu cele cu naștere de feți vii (33,2% față de 15,7%,  $p < 0,0001$ ). Nivelurile de feritină serică maternă, numărul crescut de celule albe din sânge și corioamionita histologică au fost asociate pozitiv, iar nivelurile proteice C-reactive au fost asociate negativ cu mortinatalitatea. IMC crescut (gravide supraponderale -  $R\text{Ș}= 1,48$ , 95%  $I\text{Î}$  1,14-1,94, și obeze -  $R\text{Ș}=1,60$ , 95%  $I\text{Î}$  1,23-2,08) a fost asociat cu decesul intrauterin al fătului, în comparație cu femeile cu IMC normal. Nici unul dintre markerii inflamatori nu a explicat pe deplin relația dintre obezitate și mortinatalitate [34].

Amark H. și colab. a dezvoltat un model de predicție a mortinatalității după cea de-a 28-a săptămână de gestație în sarcinile monofetale la femeile cu exces de greutate sau obezitate. Modelele de predicție pentru decesul intrauterin al fătului au fost create pe baza caracteristicilor materne, complicațiilor sarcinii și markerilor biochimici (ex. PAPP-A). Cercetătorii au ajuns la concluzia că este posibilă prezicerea a 28% din decesele intrauterine la femeile supraponderale sau obeze, la o rată fals pozitivă de 10% [35].

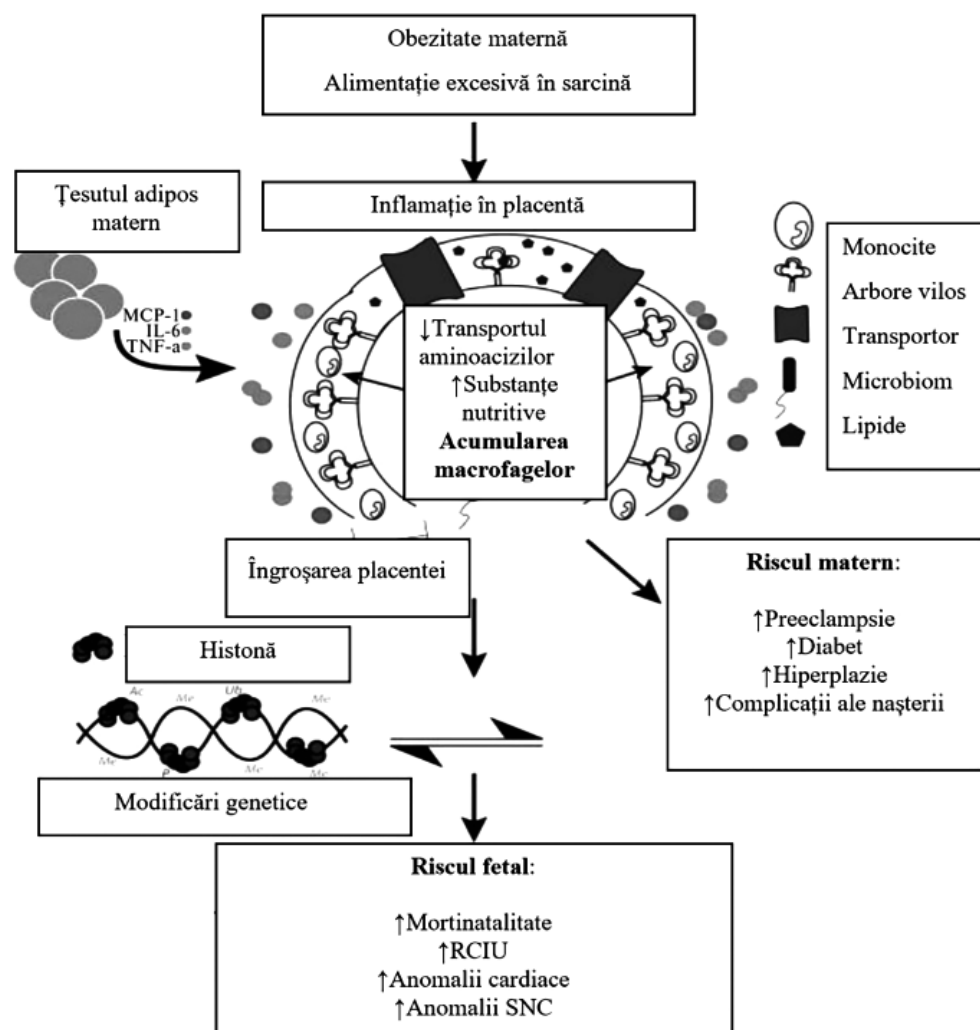


Figura 1. Patogeneza obezității în caz de rezultat nefavorabil al sarcinii pentru mamă și făt, Wilson și Messaoudi [32]

Un grup de cercetători din 4 Universități ale SUA după toate excluziunile au analizat 3.097.123 de nașteri, inclusiv 5997 cazuri de mortinatalitate. Rata totală a mortinatalității a constituit 15,0 la 10 000 de sarcini la femeile normoponderale, în comparație cu 26,7 la 10 000 de sarcini la cele din grupul morbid obez, ceea ce înseamnă o creștere de aproape 2 ori [26].

#### Bibliografie:

1. Pinheiro R. et al. Advanced Maternal Age: Adverse Outcomes of Pregnancy, a Meta-Analysis. In: Acta Médica Portuguesa, nr. 32(3), 2019, p. 219-226.
2. WHO. Noncommunicable diseases, 1 June 2018. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases> (vizitat 27.04.2020).
3. Sealock T., Sharma S. Smoking Cessation. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2020. [https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29494049/?from\\_term=stillbirth+smoking&from\\_filter=years.2018-2020&from\\_pos=6](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29494049/?from_term=stillbirth+smoking&from_filter=years.2018-2020&from_pos=6) (vizitat 05.05.20).
4. Stillbirth in the African Great Lakes Region: A Pooled Analysis of Demographic and Health Surveys. In: PLoS One, nr.13(8), 2018, e0202603. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6114867/pdf/pone.0202603.pdf>. (vizitat 05.05.20).
5. Набиева Л., Мешкова Н.А. Влияние никотиновой интоксикации на течение беременности и исходы родов. В: Вестник совета молодых учёных и специалистов Челябинской области, №1 (24), Т. 1, 2019, с. 49-53.
6. Pintican D. et al. Effects of Maternal Smoking on Human Placental Vascularization: A Systematic Review. In: Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology, nr. 58, 2019, p. 454-459.
7. Щеголев А., Туманова У., Мишнёв О. Влияние курения на развитие поражений плаценты. В: Гинекология, nr. 20(2), 2018, с. 34-40.
8. Miller C., Wright T. Investigating Mechanisms of Stillbirth in the Setting of Prenatal Substance Use. In: Acad Forensic Pathology, nr.8(4), p. 865-873.
9. Diamanti A. et al. Smoking cessation in pregnancy: An update for maternity. In: Tobacco Induced Diseases, nr. 17, 2019, p.1-14.



10. Bjornholt S. et al. Maternal Smoking During Pregnancy and Risk of Stillbirth: Results From a Nationwide Danish Register-Based Cohort Study. In: *Acta Obstet Gynecol Scandinavica*, nr.95(11), 2016, p. 1305-1312.
11. Yaya S., Bishwajit G. Exposure to Second-Hand Smoking as a Predictor of Fetal Loss: Egypt Demographic and Health Survey 2014. In: *Int Health*, nr.11(6), 2019, p. 561-567.
12. Dejong K., Olyaei A., Lo J. Alcohol Use in Pregnancy. In: *Clin Obstet Gynecology*, nr. 62(1), 2019, p. 142-155.
13. Hetea A. et al. Alcohol and Psychoactive Drugs in Pregnancy. *Maedica (Buchar)*, nr. 14(4), 2019, p. 397-401.
14. Denny C. et al. Consumption of Alcohol Beverages and Binge Drinking Among Pregnant Women Aged 18-44 Years — United States, 2015-2017. In: *Morbidity and Mortality Weekly Report*,.. In: *Morbidity and Mortality Weekly Report*, nr.68(16), 2019, p.365-368,
15. Tasew H. et al. Risk Factors of Stillbirth Among Mothers Delivered in Public Hospitals of Central Zone, Tigray, Ethiopia. In: *Afr Health Sci.*, nr. 19(2), 2019, p. 1930-1937.
16. Lassi S. et al. Impact of Dietary Interventions during Pregnancy on Maternal, Neonatal, and Child Outcomes in Low- and Middle-Income Countries. In: *Nutrients*, nr,12(2), 531. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7071393/pdf/nutrients-12-00531.pdf>. (vizitat 05.05.20),
17. Patel A. et al. Maternal Anemia and Underweight as Determinants of Pregnancy Outcomes: Cohort Study in Eastern Rural Maharashtra, India. In: *BMJ Open*, nr. 8(8):e021623. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6089300/pdf/bmjopen-2018-021623.pdf> (vizitat 05.05.20),,
18. Haruyama et al. Causes and risk factors for singleton stillbirth in Japan: Analysis of a nationwide perinatal database, 2013-2014. In: *Scientific Reports*, nr. 8, 2018, 4117. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5841302/pdf/41598\\_2018\\_Article\\_22546.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5841302/pdf/41598_2018_Article_22546.pdf) (vizitat 05.05.20),
19. Desrosiers T. et al. Low Carbohydrate Diets May Increase Risk of Neural Tube Defects. *Birth Defects Res*, nr. 110(11), 2018, p. 901-909.
20. Egeland G. Association Between Pregravid Physical Activity and Family History of Stroke and Risk of Stillbirth: Population-Based Cohort Study. In: *BMJ Open*, nr. 7(8), 2017, e017034. [https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28801430/?from\\_term=stillbirth+physical+activity&from\\_pos=1](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28801430/?from_term=stillbirth+physical+activity&from_pos=1)(vizitat 05.05.20),
21. Kumar et al. Hypertension During Pregnancy and Risk of Stillbirth: Challenges in a Developing Country. In: *J Matern Fetal Neonatal Med*, nr, 25, december 2019, p. 1-7.
22. Dudley D. et al. Stillbirth (SB), placental disease, and obesity: results from the stillbirth collaborative research network (SCRN). In: *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, nr. 216(1), 2017, S403. <https://www.ajog.org/action/showPdf?pii=S0002-9378%2816%2931400-4> (vizitat 03.05.20).
23. Yao R. et al. Obesity and stillbirth revisited: the effects from gestational hypertension and gestational diabetes. In: *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, volum 218, issue 1, supplement , january 2018, p.453-454.
24. Zile I., Ebela I. Rumba-Rozenfelde I. Maternal Risk Factors for Stillbirth: A Registry-Based Study. In: *Medicina (Kaunas)*, nr. 55(7), 2019, e 326. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6681231/pdf/medicina-55-00326.pdf>(vizitat 28.04.2020),
25. Xiong et al. Hypertensive disorders in pregnancy and stillbirth rates: a facility-based study in China. In: *Bull World Health Organ*, 2018, p. 531-539.
26. Browne K. et al.The Joint Effects of Obesity and Pregestational Diabetes on the Risk of Stillbirth. In: *J Matern Fetal Neonatal Med*, nr. 5, may 2019, p. 1-7.
27. Веселовская Н., Чумакова Г. Ожирение и беременность: сердечно-сосудистые и метаболические риски. В: *Российский кардиологический журнал*, №24(4), 2019, с. 48-52.
28. Yao R. et al. The interaction between obesity and pregestational diabetes on the risk of stillbirth. In: *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, volume 218, issue 1, supplement, 2018, p. 454-S455.
29. Stacey T. et al. Gestational Diabetes and the Risk of Late Stillbirth: A Case-Control Study From England, UK. In: *BJOG*, nr. 126(8), 2019, p. 973-982.
30. Mackin T. et al. Factors Associated With Stillbirth in Women With Diabetes. In: *Diabetologia*, nr. 62(10), 2019, p. 1938-1947.
31. Myatt L., Maloyan A. Obesity and Placental Function. In: *Semin Reprod Med*, nr. 34(1), 2016, p. 42-49.
32. Wilson R., Messaoudi I. The Impact of Maternal Obesity During Pregnancy on Offspring Immunity. In: *Mol Cell Endocrinol*, nr. 418(02), 2015, p. 134-142.
33. Adank M.C. Is maternal lipid profile in early pregnancy associated with pregnancy complications and blood pressure in pregnancy and long term postpartum? In: *Am J Obstet Gynecol*, nr. 221, 2019,p. 150 e1-13. <https://www.ajog.org/action/showPdf?pii=S0002-9378%2819%2930527-7>(vizitat 28.04.2020),
34. Harrison S. et al. Stillbirth, Inflammatory Markers, and Obesity: Results From the Stillbirth Collaborative Research Network. In: *Am J Perinatol*, nr. 35(11), 2018 Sep, p. 1071-1078.
35. Amark H., Westgren M., Persson M. Prediction of stillbirth in women with overweight or obesity—A register-based cohort study. In: *PLoS One*,nr. 13(11), 2018, 0206940.<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0206940>. (vizitat 27.04.20),
36. Sun C., Chou H., Chuang L. Trends and Risk Factors of Stillbirth in Taiwan 2006-2013: A Population-Based Study. In: *Archives of Gynecology and Obstetrics*, nr. 299, 2019, p. 961-967.

ECATERINA GORCEAG , ANGELA MARIAN-PAVLENCO

## PATOLOGIA GLANDEI TIROIDE ȘI SARCINA

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu"

### SUMMARY

#### THE PATHOLOGY OF THYROID GLAND IN PREGNANCY

Thyroid disease in pregnancy is a common clinical problem. Since the guidelines for the management of these disorders by the American Thyroid Association (ATA) were first published in 2011, significant clinical and scientific advances have occurred in the field. Because of disagreeing results of different studies, these guidelines were revised in 2017. The revised guidelines for the management of thyroid disease in pregnancy include recommendations regarding the interpretation of thyroid function tests in pregnancy, iodine nutrition, thyroid autoantibodies and pregnancy complications, thyroid considerations in infertile women, hypothyroidism in pregnancy, thyrotoxicosis in pregnancy, thyroid nodules and cancer in pregnant women, fetal and neonatal considerations, thyroid disease and lactation, screening for thyroid dysfunction in pregnancy, and directions for future research.

### РЕЗЮМЕ

#### ПАТОЛОГИЯ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И БЕРЕМЕННОСТЬ

Патология щитовидной железы во время беременности – это распространенная проблема, но глубоко не изученная. С того момента как был разработан гид Американской Ассоциацией Тироидологов в 2011, огромное количество докторов и исследователей взялись за изучение этого вопроса подробнее. В связи с разнообразными результатами ученых, гид был пересмотрен в 2017, и продолжается до сих пор работа над модернизацией. Основные аспекты для исследования включают в себя интерпретацию функциональных тестов щитовидной железы во время беременности, алиментарная обеспеченность йодом, аутоантитела к щитовидной железе и осложнения беременности, патология щитовидной железы и бесплодие, гипотиреоз и беременность, тиреотоксикоз и беременность, узлы и рак щитовидной железы у беременных женщин, состояние плода и новорожденного, патология щитовидной железы и лактация, скрининг дисфункции щитовидной железы при беременности, и направления для дальнейшего углубленного изучения этой темы.

Patologia glandei tiroide în timpul sarcinii este o problemă clinică comună cu o importanță majoră pentru populație fertilă. Sarcina are un impact semnificativ asupra funcției glandei tiroide. Dimensiunile glandei tiroide în timpul sarcinii se măresc de 10% în regiuni cu alimentația suficientă cu iod, și de la 20% până la 40% în țările unde este stabilită carența de iod. Producția de hormoni tiroidieni, tiroxină (T4) și triiodotironină (T3) crește cu aproape 50%, în combinație cu o creștere separată de 50% a necesității zilnice de iod. Aceste schimbări fiziologice au loc la femeile sănătoase, dar disfuncția apare la gravide din cauza proceselor patologice la nivelul glandei tiroide. Totodată, alte maladii tiroidiene, cum ar fi gușa nodulară și cancerul tiroidian sunt detectate ocazional în timpul sarcinii și necesită tratament. Toate disfuncțiile tiroidiene, care afectează femeile înainte, în timpul sarcinii și după naștere sunt substanțiale și necesită a fi studiate. Luînd în considerație toate aceste schimbări, aprecierea statutului funcțional tiroidian în timpul

sarcinii este foarte important. Aprecierea corectă și obiectivă a acestui statut în ziua de azi rămâne complicată, pentru că testele de laborator ale funcției tiroidiene în timpul sarcinii diferă de cele stabilite pentru femeile negravidă. Gonadotropina corionică placentară (hCG) stimulează secreția hormonilor tiroidieni, ce de obicei provoacă scăderea concentrației a hormonului tireotrop (TSH), mai ales la termenii precoci de gestație. Cu toate că aceasta scădere a TSH în primul trimestru de sarcină nu este periculoasă, determinarea limitei de sus a acestui hormon pentru anumită populație rămâne controversială [2]. Este cunoscut faptul, că mai mult de 18% din toate femeile gravide sunt pozitive pentru anticorpi către tiroidperoxidaza (TPOAb) sau pentru tireoglobulina (TgAb). Multe studii relevă, că prezența anticorpilor are un impact negativ asupra sarcinii și asupra dezvoltării fetale [2]. Mulți doctori și cercetători și-au pus întrebare de tratament optim al hipertiroidismului în timpul sarcinii. Managementul pacienților cu boala Basedov este foarte

actual, pentru că medicația antitiroidiană afectează semnificativ funcția tiroidiană maternă și fetală. Totodată erau studiate și raportate efectele teratogene a acestei medicații: metimazol (MMI) și propiltiouracil (PTU). Managementul hipo- și hipertiroidismului în perioada postpartum la femeile ce alăptează la fel rămâne actual și necesită ghidarea minuțioasă.

Luînd în considerație prevalența și pericol potențial al patologiilor tiroidiene la femeile gravide, tot mai mulți doctori recomandă evaluarea funcției glandei tiroide la toate femeile înainte și în timpul sarcinii. Aceasta metodă de screening poate fi asociată cu cost-eficiența bună. Totodată, multe studii făcute în acest domeniu au demonstrat concluzii mixte pentru rezolvarea acestei întrebări. În anul 2011, Asociația Americană de Tiroida

Sarcina fiziologică este asociată cu: 1) creșterea excreției renale a iodului, 2) creșterea globulinelor ce leagă tiroxina (TBG) și cu 3) efectele stimulatorii a hCG. Glanda tiroidă sănătoasă se adaptează către aceste schimbări prin modificarea metabolismului hormonilor tiroidieni, modificarea iodcaptării și reglarea axei hipotalamo-hipofizo-tiroidiene [3,4]. Aceste schimbări influențează asupra testelor funcționale tiroidiene în timpul sarcinii, astfel că hormonii tiroidieni la femeile gravide sănătoase diferă de cele negravidă sănătoase. Precum și, valorile de referință pentru cele mai frecvent folosite teste, cum ar fi TSH și fT4 variază semnificativ în diferite populații, figura 1.

După concepție, concentrația globulinei de transport a tiroxinei (TBG) și T4 total (TT4) crește începând cu săptămâna a 7-a de gestație și ajunge la maxim la 16 sâp-

Author, country (reference) (analyzing method)	N	Gestation (week)	TSH, mU/L			FT4, pmol/L (ng/dL)		Iodine insufficiency	Mean BMI	Population characteristics Ethnicities
			Median	2.5th- 97.5th	9.3	2.5th- 97.5th	(Median, 2.5th-97.5th)			
Bestwick <i>et al.</i> , Italy (24) (AutoDELFA)	5505	<16	1.07	0.04-3.19	9.3	7.4-12.2	(0.73, 0.58-0.95)	Moderate-mild <sup>a</sup>	NR	
Bestwick <i>et al.</i> , UK (24) (Advia Centaur)	16,334	<16	1.11	0.06-3.50	13.9	10.9-17.9	(1.08, 0.85-1.40)	Moderate-mild <sup>a</sup>	NR	
Bocos-Terraz <i>et al.</i> , Spain (264) (Architect)	481	<14	0.94	0.41-2.63	13.9	10.8-17.8	(1.08, 0.84-1.38)	Mild	NR	Caucasian (93%)
Gilbert <i>et al.</i> , Australia (271) <sup>b</sup> (Architect)	1817	9-13	0.74	0.02-2.15	13.5	10.4-17.8	(1.05, 0.81-1.39)	Borderline	NR	Australian
Lambert-Messierian <i>et al.</i> , USA (270) <sup>c</sup> (Immulate 2000)	8351	T1	1.00	0.12-3.37	14.2	10.4-17.8	(1.10, 0.81-1.38)	Mild	NR	Caucasian (67%) and Hispanic (23%) <sup>d</sup>
	8415	T2	1.19	0.35-3.35	13.0	9.3-16.2	(1.01, 0.72-1.26)			
La'ulu <i>et al.</i> , USA (139,265) <sup>e</sup>	2172	10-13	0.94	0.02-2.69	14.7	11.4-18.6	(1.15, 0.89-1.45)	Mild	NR	Hispanic (37%), Caucasian (29%), African American (27%), Asian (8%)
	2683	14-20	1.14	0.15-3.11	12.0	9.3-15.2	(0.94, 0.73-1.19)			
Li <i>et al.</i> , China (17) (Cobas EleSYS 601)	640	7-12	1.47	0.10-4.34	15.8	12.3-20.9	(1.23, 0.96-1.63)	Proven sufficient <sup>f</sup>	NR	Chinese (presumed)
Männistö <i>et al.</i> , Finland (266) (Architect i2000)	4333	T1	1.11	0.08-3.54	15.3	11.7-22.8	(1.12, 0.86-1.58)	Sufficient	22.4	Finnish (presumed)
	747	T2	1.37	0.11-4.24	14.6	11.2-23.4	(1.13, 0.87-1.82)			
Medici <i>et al.</i> , the Netherlands (267) (Vitros EC)	5186	8-18	1.30	0.03-4.04	14.7	10.4-22.0	(1.15, 0.81-1.72)	Proven sufficient <sup>f</sup>	24.5	Dutch (52%), Surinamese/Antillean (12%), Turkish (8%), Moroccan (6%)
Pearce <i>et al.</i> , USA (142) (Advia Centaur)	585	<14	1.1	0.04-3.60	2.1 <sup>h</sup>	1.5-2.9 <sup>g</sup>	—	Borderline	NR	White (77%) and African American (10%)
Quinn <i>et al.</i> , Russia (272) (Abbott AxSYM)	380	T1	1.66	0.09-4.67	—	—	—	Moderate	NR	Russian (presumed)
	549	T2	2.00	0.20-4.68	—	—	—			
Springer <i>et al.</i> , Czech Republic (268) <sup>h</sup> (ADVIA Centaur)	4337	9-11	1.21	0.06-3.67	—	—	—	Mild	NR	Caucasian (99%)
Stricker <i>et al.</i> , Switzerland (262) (Architect i2000SR)	575	6-12	0.95	0.07-2.82	13.9	10.5-18.5	(1.08, 0.82-1.44)	Sufficient	NR	Swiss (presumed)
	528	T2	1.02	0.20-2.79	12.2	9.5-15.7	(0.95, 0.74-1.22)			
Vaidya <i>et al.</i> , UK (Modular E 170) (274)	1089	<12	1.08	0.14-3.19	14.6	10.7-19.4	(1.12, 0.83-1.59)	Mild-moderate	NR	Caucasian (91) and South Asian (4)

Figura 1. Valori de referință pentru TSH și fT4 la termenii precoci de gestație în lume

(ATA) pentru prima dată a publicat ghidul pentru diagnostic și management al patologiei tiroidiene în timpul sarcinii și în perioada postpartum [2]. După această publicație au apărut multe date noi de literatură în acest domeniu, din cauza cărora cercetătorii au revizuit acest ghid. ATA au colaborat împreună cu Asociația Europeană de Tiroida (ETA), Colegiu American al Obstetricienilor și Ginecologilor, Societatea pentru Medicină Maternă și Fetală, și Iodine Global Network. Au fost studiate suplimentar disfuncțiile tiroidiene în timpul lactației, tratamentul patologiei tiroidiene la femeile infertile și la femeile supuse fertilizării in vitro (FIV). În anul 2017 a fost publicat ghidul revizuit, care a inclus 97 de recomandări pentru medici ginecologi și medici endocrinologi privind diagnosticul și managementul patologiei tiroidiene în timpul sarcinii și după naștere [2].

tămâni [5]. Aceste concentrații pe urmă rămân crescute până la naștere. În primul trimestru de sarcină, hCG matern stimulează direct receptorul TSH, ce provoacă creșterea hormonilor tiroidieni și scăderea concentrației a TSH, datorită mecanismului feed-back negativ [4,6]. Din această cauză, concentrația TSH în timpul sarcinii este mai scăzută comparativ cu valorile preconcepționale. Limita inferioară a TSH pentru femeile negravidă este 0,4 mU/L, și la mai mult de 15% de gravide absolut sănătoase această valoare este mai scăzută [7,8]. Concentrația și valoarea de referință a TSH treptat crește în al II-lea și al III-lea trimestru de sarcină, dar este relativ scăzută în comparație cu femeile negravidă [10,11]. Având în vedere concentrația crescută a hCG în sarcina multiplă comparativ cu monofetală, limita inferioară a TSH este mai scăzută la duplex [9]. Într-un studiu la 63 de femei

cu hCG > 200,000 IU/l, TSH a scăzut ( $\leq 0.2$  mU/L) la 67% de femei, dar în cazul hCG > 400,000 IU/l TSH a scăzut la 100% de femei [12].

Pentru determinarea valorilor de referință a TSH se ia în considerație aportul de iod, TPO pozitivitatea și conform unor studii- indicele de masa corporală. Limita inferioară de TSH la femeile gravide în comparație cu cele negravidă scade cu 0,1-0,2 mU/l, însă limita de sus a acestui hormon scade cu 0,5-1,0 mU/l [1,13]. Studiul primare pe femeile gravide în SUA și în Europa au stabilit, că limita de sus a TSH în timpul sarcinii constituie 2,5 mU/l în I trimestru de sarcină, și 3,0 mU/l în al II-lea și al III-lea trimestru. Însă, multe studii recente în diferite regiuni au demonstrat scăderea neînsemnată a valorilor TSH la femeile gravide comparativ cu cele negravidă. Aceste schimbări sunt dependente de repartizarea geografică și etnică. Prima recomandare a ghidului ATA constă în stabilirea valorilor de referință a TSH pentru populație locală. Aceste valori pot fi determinate la femeile gravide fără patologia glandei tiroide, nutriția suficientă cu Iod și TPOAb statut negativ (recomandare puternică, dovezi moderate). La moment sunt publicate multe studii desfășurate în diferite țări, unde a fost demonstrată asocierea între regiunea geografică și cifrele valorilor de referință pentru statut tiroidian funcțional în sarcină. Aceste valori diferă în diferite regiuni:

- **Trimester-specific reference intervals of thyroid function tests in Turkish pregnant (2019). I trimestru de sarcină: TSH 0.005-3.65, fT4 0.72-1.79**
- Trimester specific reference intervals for thyroid function tests in normal Indian pregnant women (2016). I trimestru de sarcină: TSH 0.09-6.65, fT4 9.81-18.53
- Trimester-specific reference ranges for thyroid hormones in pregnant women in China (2019). I trimestru de sarcină: TSH 0.02 to 3.78, fT4 13.93 to 26.49

Etc.

Producerea excesivă a hormonilor tiroidieni, excreția renală mărită a iodului, necesitățile fetale în Iod crescute provoacă necesitatea unei diete mai bogate în Iod în timpul sarcinii comparativ cu cea a femeilor negravidă [14]. Femeile cu nutriția adecvată cu iod înainte și în timpul sarcinii au rezerve intratiroidiene suficiente și nu au dificultăți cu adaptare la cerințe crescute în hormonii tiroidieni în timpul sarcinii [15]. Totodată în regiunile cu iododeficiență ușoară și moderată, cum este și Republica Moldova, rezervele totale scad treptat de la I până la al III-lea trimestru de sarcină, ce se reflectă în concentrația iodului urinar [16]. Această concentrație se folosește des pentru aprecierea iod-statutului în populație. Luând în considerație variația diurnă a acestui indice, el nu poate fi folosit pentru identificarea persoanelor particulare cu iod-deficiență. A patra recomandare a ghidului ATA constă în determinarea valorii medii a concentrației iodului urinar (CIU) în populație (recomandare puternică, dovezi înalte). Un singur rezultat sau CIU în 24 de ore nu

este marker valabil pentru statutul nutritional cu Iod la pacientele individuale [17,18].

Grupele de paciente la care concentrația iodului urinar (CIU) constituie 50-150  $\mu\text{g/l}$  sunt definite ca ușor și moderat iododeficiente. Aceste femei sunt supuse unui risc mai mare de a dezvolta gușa nodulară [19] și dereglări tiroidiene în timpul sarcinii [21]. CIU scăzut în timpul sarcinii este asociat cu masa placentară scăzută și cu reducerea circumferenței craniene a nou-născutului [22]. Totodată carența de iod este asociată cu deficit de atenție și cu sindromul de hiperactivitate la copii [23]. În zona cu iododeficit, administrarea sării iodate înainte de sarcină îmbunătățește funcția glandei tiroide; nu este demonstrată diferența în neurodezvoltarea copiilor [24], dar impactul pozitiv a fost relevat în alte studii [25].

Conform datelor ale Organizației Mondiale de Sănătate (OMS), valorile medii ale iodului în urină ce constituie de la 149 până la 249  $\mu\text{g/l}$ , sunt asociate cu nutriția suficientă cu iod [20]. Pentru regiunile cu carența de iod, suplimentarea alimentației cu acest microelement este necesară și foarte importantă, mai ales la femeile gravide. Opt studii în privința la suplimentarea alimentelor cu iod la gravidele din Europa au demonstrat necesitatea acestuia, cu toate că dozarea este individuală și depinde de gradul carenței de iod. Suplimentarea produselor alimentare cu iod în zone cu deficit moderat reduce concentrația tiroglobulinei (Tg) și reduce volumul glandei tiroide la gravida și la făt. Dacă suplimentarea cu iod se inițiază înainte de sarcină la femeile ioddeficiente, atunci funcția glandei tiroide va fi mai bună, dar în dependență de doză și de momentul inițierii acesteia [27].

Institutul American de Medicină recomandă administrarea zilnică totală a iodului (dieta și suplimentul) în felul următor:

- 150  $\mu\text{g/l}$  pentru femeile ce planifică sarcina;
- 220  $\mu\text{g/l}$  pentru femeile însărcinate;
- 290  $\mu\text{g/l}$  pentru femeile, care alăptează [28].

Organizația Mondială de Sănătate (OMS) recomandă 250  $\mu\text{g/l}$  pentru femeile gravide și cele, care alăptează [39]. Aceste valori sunt suportate de un studiu pe 7000 de gravide în China, unde a fost depistat că hipotiroidismul subclinic și hipotiroxinemia sunt diagnosticate mai rar în caz de CIU 150-249  $\mu\text{g/l}$ , dar riscul mai mare pentru ambele patologii se mărește când CIU este mai mic sau mai mare de această valoare [26]. Luând în vedere aspectele menționate, sunt evidențiate încă câteva recomandări importante. A 5-a recomandare a ghidului ATA 2017: toate femeile gravide trebuie să administreze aproximativ 250  $\mu\text{g/l}$  de iod în fiecare zi. Pentru ca să ajungem anume la această doză, avem nevoie de aprecierea acestor valori pe teritoriul anumit (recomandare puternică, dovezi înalte). A 6-a recomandare a ghidului ATA 2017: în mai multe regiuni, femeile ce își planifică sarcina sau sunt deja gravide, trebuie să consume suplimentar în fiecare zi câte 150  $\mu\text{g/l}$  de Iod în forma de KI. Se recomandă de inițiat această profilaxie cu 3 luni înainte de sarcină (recomandare puternică, dovezi moderate). A 7-a recomandare a

ghidului ATA 2017: în regiuni cu resurse de iod minime, unde nu este răspândită programa cu iodarea sării, și unde nu sunt accesibile suplimentele cu iod, se recomandă a singură doză anuală - 400 mg de ulei iodat pentru femeile gravide și cele în vîrsta reproductivă ca o metodă temporară de protecție a populației vulnerabile. Această metodă nu ar trebui să fie aplicată ca o strategie pe lungă durată pentru regiunile, unde sunt accesibile alte metode de combatere a deficitului de iod (recomandare slabă, dovezi moderate). A 8-a recomandare a ghidului ATA 2017: nu este necesar să inițiam suplimentarea cu iod la femeile gravide, care deja administrează LT4, sau care se tratează pentru hipertiroidism (recomandare slabă, dovezi slabe). Totodată trebuie să fim atenți la supradozarea iodului, care de fapt este foarte periculos. A 10-a recomandare a ghidului ATA 2017: suplimentul cu iod în exces de 500 μg în fiecare zi trebuie evitat în timpul sarcinii din cauza riscului potențial pentru disfuncția tiroidiană fetală.

Multe studii se bazează la moment pe influența auto-anticorpilor către glanda tiroidă în timpul sarcinii și influența acestora asupra rezultatelor perinatale. Anti-TPO sau anti-Tg anticorpii sunt prezente la 2%-17% de gravide neselectate [21]. Prevalența anticorpilor variază în dependența de etnicitate. Este demonstrat faptul, că alimentația excesivă cu produsele, bogate în iod este asociată cu statut AntiTPO pozitiv [26]. Demult se studiază monitorizarea femeilor eutiroidice cu anticorpii Anti TPO. Autorii au observat, că la femeile eutiroidice cu statut autoimun pozitiv, valorile TSH cresc pe parcursul sarcinii, de la 1,7 mU/l (12 săptămîni) până la 3.5 mU/l (la termen), și 19 % din aceste femei au TSH supranormal la naștere. Din cauza că riscul de creștere a TSH la femeile cu autoimunitate este mare, aceste paciente trebuie minuțios supravegheate în dinamică. . A 11-a recomandare a ghidului ATA 2017: Gravidele eutiroidice cu statut autoimun pozitiv trebuie să fie testate la TSH la confirmarea sarcinii și la fiecare 4 săptămîni în timpul sarcinii (recomandare puternică, dovezi înalte).

În această ordine de idei și de recomandări, femeile gravide în Republica Moldova trebuie să fie apreciate pentru statutul funcțional tiroidian, pentru că acest teritoriu este zona cu iododeficit moderat. Statul trebuie să implementeze programe de screening pentru patologia tiroidiană cu scopul îmbunătățirii rezultatelor perinatale și a statutului mintal a viitoarei generații.

#### Bibliografie:

1. Stagnaro-Green A, Abalovich M, Alexander E, Azizi F, Mestman J, Negro R, Nixon A, Pearce EN, Soldin OP, Sullivan S, Wiersinga W, American Thyroid Association Taskforce on Thyroid Disease During Pregnancy and Postpartum 2011 Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum. *Thyroid* 21:1081–1125.
2. Dgd
3. van Raaij JM, Vermaat-Miedema SH, Schonk CM, Peek ME, Hautvast JG 1987 Energy requirements of pregnancy in The Netherlands. *Lancet* 2:953–955.
4. Glinoe D 1997 The regulation of thyroid function in pregnancy: pathways of endocrine adaptation from physiology to pathology. *Endocr Rev* 18:404–433.
5. Weeke J, Dybkjaer L, Granlie K, Eskjaer Jensen S, Kjaerulff E, Laurberg P, Magnusson B 1982A longitudinal study of serum TSH, and total and free thyroxines during normal pregnancy. *Acta Endocrinologica* 101:531.
6. Baloch Z, Carayon P, Conte-Devolx B, Demers LM, Feldt-Rasmussen U, Henry JF, LiVosli VA, Niccoli-Sire P, John R, Ruf J, Smyth PP, Spencer CA, Stockigt JR, Guidelines Committee, National Academy of Clinical Biochemistry 2003 Laboratory medicine practice guidelines. Laboratory support for the diagnosis and monitoring of thyroid disease. *Thyroid* 13:3–126.
7. Soldin OP, Tractenberg RE, Hollowell JG, Jonklaas J, Janicic N, Soldin SJ 2004 Trimester-specific changes in maternal thyroid hormone, thyrotropin, and thyroglobulin concentrations during gestation: trends and associations across trimesters in iodine sufficiency. *Thyroid* 14:1084–1090.
8. Kahric-Janicic N, Soldin SJ, Soldin OP, West T, Gu J, Jonklaas J 2007 Tandem mass spectrometry improves the accuracy of free thyroxine measurements during pregnancy. *Thyroid* 17:303–311
9. Sapin R, D'Herbomez M, Schlienger JL 2004 Free thyroxine measured with equilibrium dialysis and nine immunoassays decreases in late pregnancy. *Clin Lab* 50:581–584.
10. Haddow JE, Knight GJ, Palomaki GE, McClain MR, Pulkkinen AJ 2004 The reference range and within-person variability of thyroid stimulating hormone during the first and second trimesters of pregnancy. *J Med Screen* 11:170–174.
11. Panesar NS, Li CY, Rogers MS 2001 Reference intervals for thyroid hormones in pregnant Chinese women. *Ann Clin Biochem* 38:329–332.
12. Lockwood CM, Grenache DG, Gronowski AM 2009 Serum human chorionic gonadotropin concentrations greater than 400,000 IU/L are invariably associated with suppressed serum thyrotropin concentrations. *Thyroid* 19:863–86815.
13. De Groot L, Abalovich M, Alexander EK, Amino N, Barbour L, Cobin RH, Eastman CJ, Lazarus JH, Luton D, Mandel SJ, Mestman J, Rovet J, Sullivan S 2012 Management of thyroid dysfunction during pregnancy and postpartum: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 97:2543–2565.
14. Glinoe D 2007 The importance of iodine nutrition during pregnancy. *Public Health Nutr* 10:1542–1546.
15. Liberman CS, Pino SC, Fang SL, Braverman LE, Emerson CH 1998 Circulating iodide concentrations during and after pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 83:3545–3549.

16. Brander L, Als C, Buess H, Haldimann F, Harder M, Hanggi W, Herrmann U, Lauber K, Niederer U, Zurcher T, Burgi U, Gerber H 2003 Urinary iodine concentration during pregnancy in an area of unstable dietary iodine intake in Switzerland. *J Endocrinol Invest* 26:389–396.
17. Andersen S, Karmisholt J, Pedersen KM, Laurberg P 2008 Reliability of studies of iodine intake and recommendations for number of samples in groups and in individuals. *Br J Nutr* 99:813–818.
18. König F, Andersson M, Hotz K, Aeberli I, Zimmermann MB 2011 Ten repeat collections for urinary iodine from spot samples or 24-hour samples are needed to reliably estimate individual iodine status in women. *J Nutr* 141:2049–2054.
19. Berghout A, Wiersinga W 1998 Thyroid size and thyroid function during pregnancy: an analysis. *Eur J Endocrinol* 138:536–542.
20. World Health Organization/International Council for the Control of the Iodine Deficiency Disorders/United Nations Children's Fund (WHO/ICCIDD/UNICEF) 2007 Assessment of the iodine deficiency disorders and monitoring their elimination. World Health Organization, Geneva.
21. Moreno-Reyes R, Glinoeer D, Van Oyen H, Vandevijvere S 2013 High prevalence of thyroid disorders in pregnant women in a mildly iodine-deficient country: a populationbased study. *J Clin Endocrinol Metab* 98:3694–3701.
22. Olivares JL, Olivi GI, Verdasco C, Ortiz VA, Mayer MA, Cresto JC 2012 Low iodine intake during pregnancy: relationship to placental development and head circumference in newborn. *Endocrinol Nutr* 59:326–330
23. Vermiglio F, Lo Presti VP, Moleti M, Sidoti M, Tortorella G, Scaffidi G, Castagna MG, Mattina F, Violi MA, Crisa A, Artemisia A, Trimarchi F 2004 Attention deficit and hyperactivity disorders in the offspring of mothers exposed to mild-moderate iodine deficiency: a possible novel iodine deficiency disorder in developed countries. *J Clin Endocrinol Metab* 89:6054–6060.
24. Santiago P, Velasco I, Muela JA, Sánchez B, Martínez J, Rodríguez A, Berrio M, Gutierrez-Repiso C, Carreira M, Moreno A, García-Fuentes E, Soriguer F 2013 Infant neurocognitive development is independent of the use of iodised salt or iodine supplements given during pregnancy. *Br J Nutr* 110:831–839.
25. Trumpff C, De Schepper J, Tafforeau J, Van Oyen H, Vanderfaeillie J, Vandevijvere S 2013 Mild iodine deficiency in pregnancy in Europe and its consequences for cognitive and psychomotor development of children: a review. *J Trace Elem Med Biol* 27:174–183.
26. Shi X, Han C, Li C, Mao J, Wang W, Xie X, Li C, Xu B, Meng T, Du J, Zhang S, Gao Z, Zhang X, Fan C, Shan Z, Teng W 2015 Optimal and safe upper limits of iodine intake for early pregnancy in iodine-sufficient regions: a cross-sectional study of 7,190 pregnant women in China. *J Clin Endocrinol Metab* 100:1630–1638.
27. Vandevijvere S, Amsalkhir S, Mourri AB, Van Oyen H, Moreno-Reyes R 2013 Iodine deficiency among Belgian pregnant women not fully corrected by iodine-containing multivitamins: a national cross-sectional survey. *Br J Nutr* 109:2276–2284.
28. Trumbo P, Yates AA, Schlicker S, Poos M 2001 Dietary reference intakes: vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. *J Am Diet Assoc* 101: 294–301.

## CAZ CLINIC

© Alina Nicolescu<sup>1,2</sup>, Ninel Revenco<sup>3,4</sup>, Sergiu Gladun<sup>3</sup>, Mihail Strătilă<sup>3</sup>,  
Natalia Usurelu<sup>3,\*</sup>, Calin Deleanu<sup>1,2,\*</sup>

ALINA NICOLESCU<sup>1,2</sup>, NINEL REVENCO<sup>3,4</sup>, SERGIU GLADUN<sup>3</sup>, MIHAIL STRĂTILĂ<sup>3</sup>,  
NATALIA USURELU<sup>3,\*</sup>, CALIN DELEANU<sup>1,2,\*</sup>

### DIAGNOSIS OF INBORN METABOLIC DISORDERS ASSISTED BY NMR SPECTROSCOPY – RECENT CASES FROM INSTITUTE OF MOTHER AND CHILD CHISINAU

<sup>1</sup> “Petru Poni” Institute of Macromolecular Chemistry, Romanian Academy, Iasi, Romania.

<sup>2</sup> “C. D. Nenitescu” Centre of Organic Chemistry, Romanian Academy, Bucharest, Romania.

<sup>3</sup> Institute of Mother and Child, Chisinau, Republic of Moldova.

<sup>4</sup> “Nicolae Testemitanu” State University of Medicine and Pharmacy, Pediatric Department, Chisinau, Republic of Moldova.

#### REZUMAT

#### DIAGNOSTICUL ERORILOR ÎNNĂSCUTE DE METABOLISM PRIN INTERMEDIUL SPECTROSCOPIEI RMN – CAZURI RECENTE INVESTIGATE IN CADRUL INSTITUTULUI MAMEI ȘI COPILULUI CHIȘINĂU

Lucrarea prezintă un istoric al introducerii spectroscopiei RMN în cercetarea și diagnosticul medical și descrie trei tipuri de diagnostic asistat prin spectroscopie RMN care au fost folosite în ultimii ani la depistarea unor cazuri de boli metabolice rare la Institutul Mamei și Copilului din Chișinău. Este analizat detaliat spectrul RMN al unei probe de urină recoltată de la o persoană din lotul de control și sunt prezentate mai multe regiuni semnificative din spectrele RMN uni- și bidimensionale care au permis identificarea markerilor specifici pentru diagnosticarea și monitorizarea unor cazuri de acidurie metilmalonică, acidurie glutarică de tipul 1 și galactozemie la IMC.

#### РЕЗЮМЕ

#### ДИАГНОСТИКА ВРОЖДЕННЫХ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ С ПОМОЩЬЮ ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ

Данная работа представляет краткую историю введения ЯМР-спектроскопии в медицинские исследования и диагностику, а также три типа диагностики с помощью ЯМР, использованные в последние годы для определения многочисленных случаев редких метаболических заболеваний в Институте Матери и Ребѐнка в Кишинѐве. Она представляет детальные ЯМР спектры проб мочи обследованных из контрольной группы и многочисленных значимых регионов одно- и двухмерного ЯМР-спектра, которые позволяют идентифицировать специфические маркѐры для диагностики и мониторинга метилмалоновой ацидурии, глутаровой ацидурии 1 типа и галактоземии в Институте Матери и Ребѐнка.

#### Introduction

Nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy has already proven its power in urine analysis. Pioneering works have been carried out by J. K. Nicholson and P. J. Sadler in the mid 1980's once the 400 MHz NMR instruments widely penetrated the chemical community [1-7]. The potential of NMR for diagnosis of diabetes was also realized in the early stages of development of this research field [8,9]. By late 1990's, the NMR urine analysis became an established technique for assisted diagnosis of metabolic disorders. In spite of the great number of pub-

lished papers on NMR urine analysis, and of the existence of several groups around the world active in the field, there are only a few published results on metabolite ranges determined by NMR. Most of these data are being kept as in-house raw databases. Thus, most of the normal ranges for various metabolite concentrations published to date where obtained by classical methods [10-12]. The reference work for normal values for metabolite concentrations in urine obtained by NMR has been published by the Zuppi's group [13]. The same group also described the comparison of metabolite concentrations for control populations from

two different geographical regions [14]. We also published metabolite concentrations for normal and Diabetes groups from Eastern Europe (Bucharest), and we discussed the results in comparison with previously published data [15-17]. The major advantages of the NMR method are the provision of direct information, and an untargeted global biochemical profile, with minimum sample preparation. In contrast, classical methods require pre-selected conditions for targeted markers. The technique is extremely powerful in tracing abnormal metabolites. However, little has been done until now in terms of establishing databases for healthy individuals. In general, each NMR group is developing its own in-house reference spectral database and uses it to target abnormal cases.

Since 2011 we are using NMR spectroscopy for supporting diagnosis of suspected cases of inborn errors of metabolism (IEM) in Chisinau. The present paper exemplifies NMR assisted diagnoses of rare diseases in the Institute of Mother and Child, Chisinau.

### Materials and methods

The urine samples were collected in sterile containers with tight-fitting covers as individual points for each excretion moment. The urine samples were frozen and stored at -20 °C until <sup>1</sup>H NMR analysis.

The NMR spectra were recorded on a Bruker Avance III 400 MHz spectrometer, using a 5 mm inverse detection multinuclear probe equipped with gradients on the z-axis. The samples were run in 5 mm Wilmad 507 NMR tubes. Before NMR analysis, the samples were allowed to reach

room temperature (typically one hour) and centrifuged at 7,000 rpm for 10 min. To 0.9 mL urine, 0.1 mL of a stock solution of 5 mM sodium 3-(trimethylsilyl)-[2,2,3,3-d<sub>4</sub>]-1-propionate (TSP) (Aldrich) in KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/KOH/D<sub>2</sub>O buffer (Aldrich) was added. The chemical shifts are reported as δ values (ppm) referenced to TSP as internal standard. The <sup>1</sup>H NMR spectra were recorded with water presaturation. The pulse sequence used 32 scans, a 90° pulse, 30 s relaxation delay, 3 s CW irradiation and 4 s acquisition time as previously described [15-18].

### Results and discussions

Urine is the biological fluid with the highest number of signals visible in the NMR spectrum. This high number of signals on one hand it represents a huge potential for identifying a large number of pathological markers and, on the other hand, it complicates the analysis of the NMR spectrum, which requires special training for interpretation.

If in chromatography based analytical methods (e.g. LC/GS-UV/MS), each metabolite gives one signal in the chromatogram at a well defined retention time, in the NMR spectroscopy there are several signals for the same metabolite. Moreover, each signal may have more than one line, and the position in the spectrum (frequency) of each signal exhibit variations (shifts) depending on the pH of the sample and on the concentration of ions (Ca, Mg, Na). To make things even more complicated, all signals of all metabolites appear in the NMR spectrum in the same time, thus leading to sever overlaps and making the assignments more challenging than in other types of

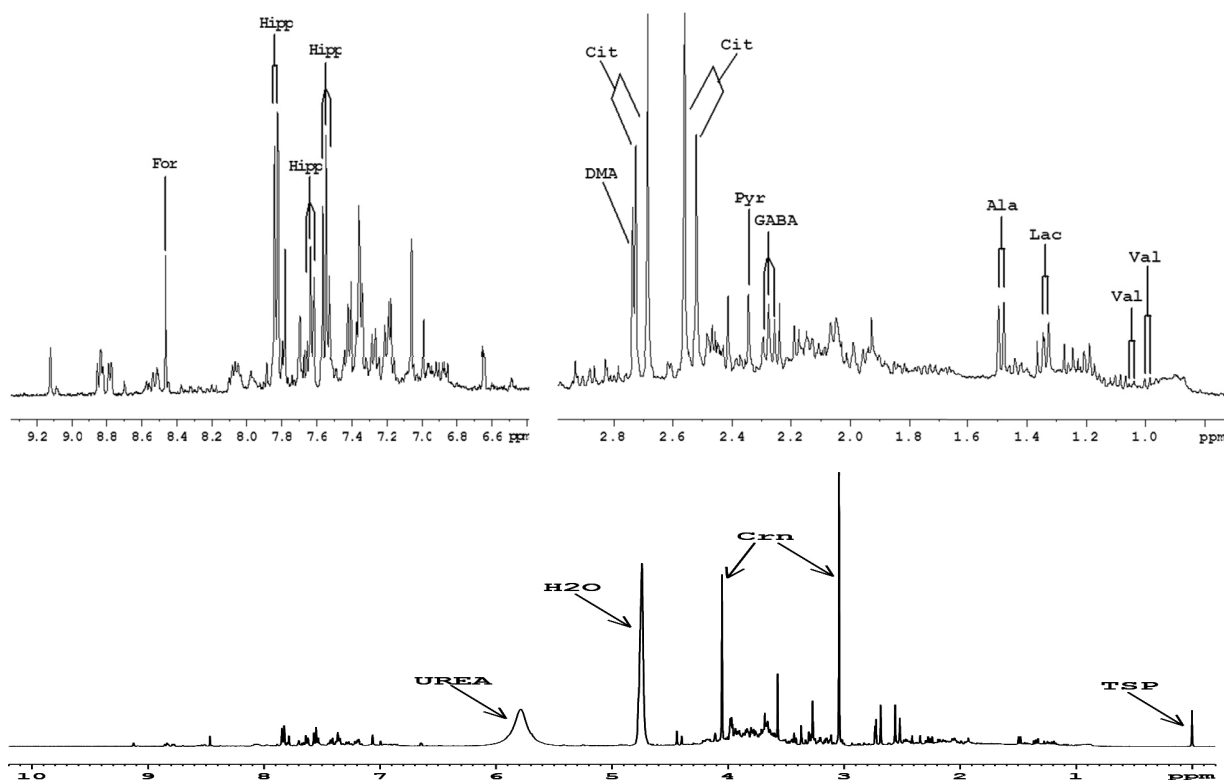


Figure 1. <sup>1</sup>H NMR spectrum of a urine sample of a healthy person. Lower trace, the entire spectral window. Upper trace the amplification of the regions 6.5-9.3 ppm (left) and 1.8-2.9 ppm (right).



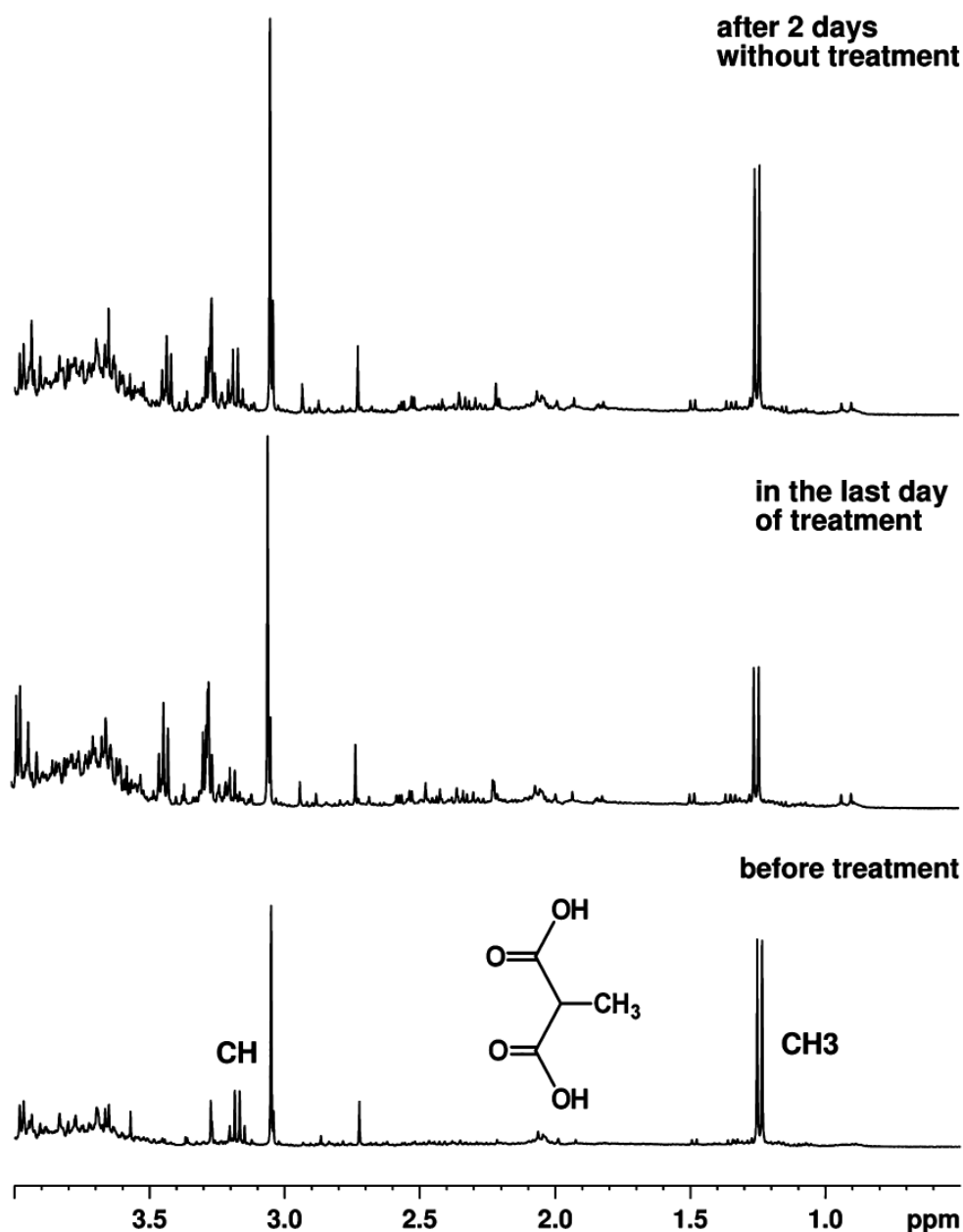


Figure 2.  $^1\text{H}$  NMR spectra of urine samples from a 2 years old boy with MMA, before and after initiating the treatment.

analyses. Thus, unlike other analytical techniques which have been introduced in clinical laboratories as “black box” automatic analyzers, the NMR spectroscopy involves complex research activities for each analyzed sample. In spite of these complications requiring specialized researchers and higher costs, NMR spectroscopy is nowadays considered one of the most valuable analytical tools for personalized medicine. Also, untargeted NMR is considered the most promising next generation inborn screening technique.

$^1\text{H}$  NMR spectra of urine from patients with inborn errors of metabolism show in many cases signals associated to markers of the specific diseases. However, there are often cases when the signals of the markers are

masked by other signals related to normal metabolites, drugs, specific therapy metabolites, exogenous contaminants, or even food related metabolites. In order to overcome assignment ambiguities additional types of multipulse and two dimensional NMR spectra are often recorded in order to achieve safer diagnosis of inborn errors of metabolism.

Figure 1 presents the whole  $^1\text{H}$  NMR spectrum of a urine sample from a healthy individual. The figure shows the complexity of such an NMR spectrum.

Below we present several relevant regions of NMR spectra which have been used to identify metabolites associated to various cases of inborn errors of metabolism from the Institute of Mother and Child (IMC), Chisi-

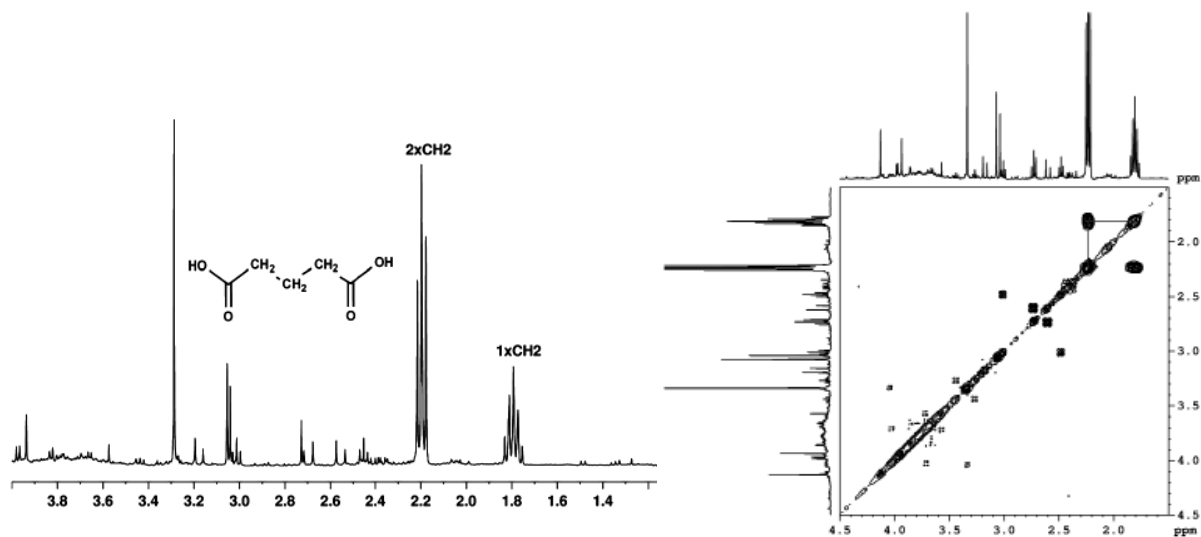


Figure 3.  $^1\text{H}$  NMR spectrum (left) and the H-H COSY NMR spectrum (right) of the same urine sample from an 18 months old boy with glutaric aciduria.

nau. All selected spectra show well resolved marker signals in order to be self explanatory for the medical diagnosis, avoiding thus the need of presenting extensive additional NMR data which are outside the purpose of this paper.

**Methylmalonic aciduria (MMA)** is an inherited (autosomal recessive) disorder in which the body is unable to properly process certain proteins and fats

(lipids) due to a missing or defective enzyme (methylmalonyl-CoA mutase). The effects of methylmalonic acidemia, which usually appear in early infancy, vary from mild to life-threatening. This condition occurs in an estimated 1:50,000 to 1:100,000 new births. *Figure 2* shows amplification of the relevant region of the  $^1\text{H}$  NMR spectra of urine samples from a 2 years old boy with MMA. One can see how the effect of the treatment can be successfully monitored by this technique.

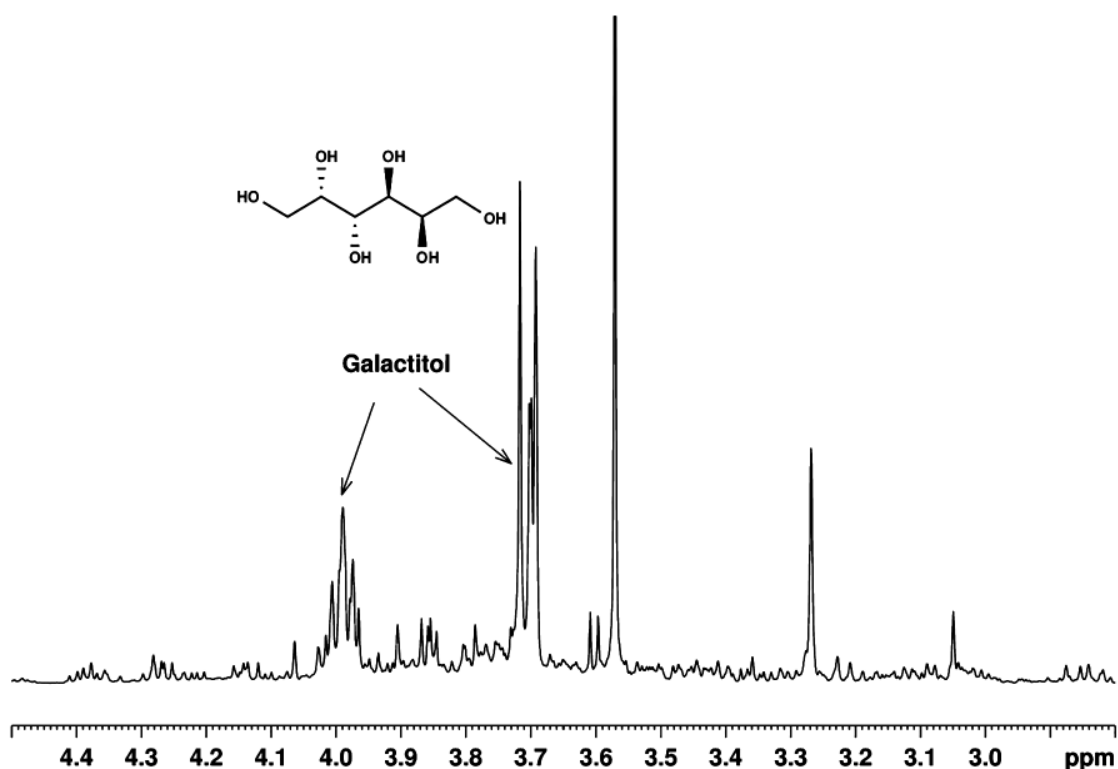


Figure 4.  $^1\text{H}$  NMR spectrum of a urine sample from a one month old girl with galactosemia monitored during specific diet based on milk without lactose.

**Type 1 Glutaric aciduria**, an inherited disorder in which the body is unable to properly process certain proteins due to a missing or defective enzyme (glutaryl-CoA dehydrogenase). The condition has an incidence estimated to 1:30,000 up to 1:40,000 new births. *Figure 3* shows the  $^1\text{H}$  NMR and H-H COSY NMR relevant spectral regions of an 18 months old boy with type 1 glutaric aciduria. The H-H COSY spectrum was used to assign the signals in the  $^1\text{H}$  NMR spectrum.

**Galactosemia** is an inherited defect of galactose metabolism caused by one or several enzymes deficiencies (galactose-1-phosphate uridylyl transferase for classical Galactosemia) that prevents proper metabolism of galactose. The main dietary source of galactose is lactose, which is the main carbohydrate found in all forms of natural milk. This condition occurs in an estimated 1:60,000 new births. In galactosemia a diet without lactose is mandatory. Before diagnosis, when normal milk is administered, galactose is building up in organism as the main metabolite of lactose. When the patient is under specific diet, galactose can hardly be detected. However, even when the products based on normal milk are completely excluded, small amounts of galactose are finding their ways into organism, e.g. through fruits and vegetables which are allowed in the diet, or through other metabolic pathways. In the absence of galactose as main marker of galactosemia, in order to indirectly follow up its presence in the organism, we have been monitoring by NMR the presence of galactitol. This compound, a reduction product of galactose, has two characteristic signals: a multiplet in the interval 3.69-3.71 ppm and a triplet centered at 3.98 ppm. *Figure 4* shows the amplification of the relevant  $^1\text{H}$  NMR spectral region used for monitoring of a one month old girl under specific galactosemia diet.

### Conclusions

NMR spectroscopy has the potential for both targeted and untargeted screening of metabolites in biological fluids such as urine. We have presented three types of inborn errors of metabolism for which NMR spectroscopy successfully assisted the diagnosis of several cases of rare metabolic diseases in the IMC Chisinau. The presented cases demonstrate the efficiency of diagnosing rare metabolic diseases when the joint group involves both NMR scientists and pediatricians/geneticists. The described historical

cases are the ground basis of a recent expansion of our collaboration to an NMR inborn screening in IMC.

### Bibliography:

1. J.R. Bales, D.P. Higham, I. Howe, J.K. Nicholson, P.J. Sadler, *Clin. Chem.*, **1984**, *30*, 426-432.
2. J.R. Bales, P.J. Sadler, J.K. Nicholson, J.A. Timbrell, *Clin. Chem.*, **1984**, *30*, 1631-1636.
3. J.K. Nicholson, P.J. Sadler, J.R. Bales, S.M. Juul, A.F. MacLeod, P.H. Sonksen, *Lancet*, **1984**, *2*, 751-752.
4. J.K. Nicholson, M.P. O'Flynn, P.J. Sadler, A.F. Macleod, S.M. Juul, P.H. Sonksen, *Biochem. J.*, **1984**, *217*, 365-375.
5. R.A. Iles, G.J. Snodgrass, R.A. Chalmers, T.E. Stacey, *Lancet*, **1984**, *2*, 1221-1222.
6. J.K. Nicholson, I.D. Wilson, *Prog. NMR Spectrosc.*, **1989**, *21*, 449-501.
7. J.D. Bell, J.C. Brown, P.J. Sadler, *NMR Biomed.*, **1989**, *2*, 246-256.
8. J.R. Bales, D.P. Higham, I. Howe, J.K. Nicholson, P.J. Sadler, *Clin. Chem.*, **1984**, *30*, 426-432.
9. S. Chinayon, W. Jinsart, P. Pansin, S. Eiam-Ong, S. Sitprija, V. Sitprija, *J. Med. Assoc. Thai.*, **1990**, *73*, 508-513.
10. N. Blau, M. Duran, M.E. Blaskovics, K.M. Gibson (Eds.), "Physician's guide to the laboratory diagnosis of metabolic diseases", 2003, Springer, Berlin.
11. N. Blau, M. Duran, K.M. Gibson, C. Dionisi-Vici (Eds.), "Physician's guide to the diagnosis, treatment, and follow-up of inherited metabolic disease", 2014, Springer, Heidelberg.
12. J.-M. Saudubray, M.R. Baumgartner, J. Walter (Eds.), "Inborn metabolic diseases. Diagnosis and treatment", 6<sup>th</sup> Ed., Springer, Berlin, Heidelberg, 2016.
13. C. Zuppi, I. Messana, F. Forni, C. Rossi, L. Pennacchiotti, F. Ferrari, B. Giardina, *Clin. Chim. Acta*, **1997**, *265*, 85-97.
14. C. Zuppi, I. Messana, F. Forni, F. Ferrari, C. Rossi, B. Giardina, *Clin. Chim. Acta*, **1998**, *278*, 75-79.
15. C. Ciurtin, A. Nicolescu, L. I. Stefan, E. Kovacs, I.C.P. Smith, C. Deleanu, *Rev. Chim.*, **2007**, *52*, 51-55.
16. L.I. Stefan, A. Nicolescu, S. Popa, M. Mota, E. Kovacs, C. Deleanu, *Rev. Roum. Chim.*, **2010**, *55*, 1033-1037.
17. Nicolescu, B. Dolenko, T. Bezabeh, L.-I. Stefan, C. Ciurtin, E. Kovacs, I.C.P. Smith, B.C. Simionescu, C. Deleanu, *Rev. Chim.*, **2011**, *62*, 1150-1153.
18. M. Musteata, A. Nicolescu, G. Solcan, C. Deleanu, *Plos One*, **2013**, *3*, e81192.

© Stela Racoviță<sup>1</sup>, Veaceslav Moșin<sup>1</sup>, Svetlana Hadjiu<sup>1,2</sup>, Dumitru Poneatenco<sup>3</sup>,  
Ninel Revenco<sup>1,2</sup>, Mariana Sprincean<sup>1</sup>

STELA RACOVIȚĂ<sup>1</sup>, VEACESLAV MOȘIN<sup>1</sup>, SVETLANA HADJIU<sup>1,2</sup>, DUMITRU PONEATENCO<sup>3</sup>,  
NINEL REVENCO<sup>1,2</sup>, MARIANA SPRINCEAN<sup>1</sup>

## SINDROMUL 47, XYY ASOCIAT CU INFERTILITATEA MASCULINĂ: RAPORT DE CAZ CLINIC

<sup>1</sup>Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

<sup>2</sup>IMSP Institutul Mamei și Copilului (Director – dr. șt. med., conf. univ. S. Gladun)

<sup>3</sup>Centrul Medical Repromed

### SUMMARY

#### SYNDROME 47, XYY ASSOCIATED WITH MEN'S INFERTILITY: CLINICAL CASE REPORT

**Key words:** *male infertility, 47, XYY, karyotype, G banding*

**Introduction:** The XYY syndrome is a sex chromosome aneuploidy that is found in one of 1.000 live male births in the general population, but more frequently in infertile men. This syndrome is associated with varying phenotype and different degrees of infertility.

**The Purpose:** To confirm the importance of the clinic-cytogenetic evaluation in men with severely affected spermogram, for the etiological diagnosis of male infertility.

**Materials and methods:** A 36-year-old man with a 10-year history of infertility was evaluated in the medical-genetic consulting. According to the semen analysis he presented oligoasthenoteratozoospermia. Hormone levels testosterone, estradiol, luteinizing hormone [LH], follicle stimulating hormone [FSH], were measured. Karyotyping was performed on peripheral blood lymphocytes by cytogenetic method according to standard method G.

**Results:** Physical examination revealed tall stature with elevated body mass index. The results of endocrine markers showed a slight increase in FSH, while LH, estradiol, serum testosterone concentration were in the normal range. According to the cytogenetic examination, the patient presented a karyotype 47,XYY, without evidence of mosaicism, structural or numerical chromosomal abnormalities.

**Conclusion:** Due to the variable phenotype and the lack of specific clinical manifestations, identification and diagnosis of men with 47, XYY syndrome may be difficult. Careful medical-genetic consulting is important for the etiological diagnosis of this patients with infertility.

### РЕЗЮМЕ

#### СИНДРОМ 47, ХУУ СВЯЗАННЫЙ С МУЖСКОМ БЕСПЛОДИЕМ: КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

**Ключевые слова:** *мужское бесплодие, 47, ХУУ, кариотип, методика G*

**Введение.** Синдром ХУУ представляет собой анеуплоидию половых хромосом, которая встречается у одного из 1000 живорожденных мужчин в общей популяции, но чаще у бесплодных мужчин. Этот синдром связан с различным фенотипом и различной степенью бесплодия.

**Цель:** подтвердить важность клинико-цитогенетической оценки у мужчин с тяжело пораженной спермограммой для этиологической диагностики мужского бесплодия.

**Материалы и методы:** 36-летний мужчина с 10-летним бесплодием был оценен в рамках медико-генетического консультирования. Согласно анализу спермы он представил олигоастенотератозооспермию. Были измерены уровни гормонов тестостерона, эстрадиола, лютеинизирующего гормона [ЛН], фолликулостимулирующего гормона [FSH]. Кариотипирование проводили на лимфоцитах периферической крови цитогенетическим методом по стандартной методике G.

**Rezultaty.** Физикальное обследование показало высокий рост с повышенным индексом массы тела. Результаты эндокринных маркеров показали небольшое увеличение ФСГ, в то время как концентрация ЛГ, эстрадиола, сывороточного тестостерона была в пределах нормы. Согласно цитогенетическому исследованию, у пациента был кариотип 47, XYY, без признаков мозаицизма, структурных или численных хромосомных аномалий.

**Заключение:** из-за изменчивого фенотипа и отсутствия конкретных клинических проявлений идентификация и диагностика мужчин с синдромом 47, XYY могут быть затруднены. Тщательная медико-генетическая консультация важна для этиологической диагностики этих пациентов с бесплодием.

**Cuvinte-cheie:** infertilitate masculină, sindrom 47, XYY, cariotip, bandare -G

**Introducere:** Sindromul XYY este o aneuploidie a cromozomilor sexuali care se întâlnește la unul din 1.000 de nașteri vii de sex masculin în populația generală, frecvența fiind mai înaltă în rândul populațiilor infertile. Acest sindrom este asociat cu fenotip variabil și diferite grade de infertilitate.

**Scopul:** De a confirma importanța evaluării clinico-citogenetice la bărbații cu spermograma sever afectată, pentru diagnosticul etiologic al infertilității masculine.

**Materiale și metode:** Un bărbat de 36 de ani, căsătorit, cu o istorie de 10 ani de infertilitate, a fost evaluat în cadrul consultației medico-genetice. Conform rezultatelor examenului materialului seminal repetat pacientul a prezentat oligoastenoteratozoospermie. Au fost examinați markerii endocrini nivelurile de Testosteron, Estradiol, Hormonul Luteinizant [LH], Hormonul Foliculostimulant [FSH]. Cariotiparea a fost efectuată pe limfocite din sângele periferic prin metoda citogenetică conform metodei standard G.

**Rezultate:** Examenul fizic al pacientului a relevat o statură înaltă, cu indicele de masă corporală ridicat. Rezultatele markerilor endocrini au arătat o ușoară creștere a FSH, în timp ce concentrația de LH, Estradiol, Testosteron seric s-au înscris în limitele normale. Conform examinării citogenetice, pacientul a prezentat un cariotip 47,XYY, fără dovezi de mozaicism, anomalii cromozomiale structurale sau numerice.

**Concluzie:** Datorită fenotipului variabil și lipsei manifestărilor clinice specifice, identificarea și diagnosticul bărbaților cu sindromul 47,XYY poate fi dificilă. Consultarea medico-genetică minuțioasă este importantă pentru diagnosticul etiologic al acestor pacienți cu infertilitate.

**Introducere.** Sindromul XYY este o aneuploidie a cromozomilor sexuali ce se caracterizează prin prezența unui cromozom Y suplimentar la bărbat, formând un cariotip 47,XYY. Această anomalie cromozomială se întâlnește la unul din 1.000 de nașteri vii de sex masculin în populația generală, frecvența fiind mai înaltă în rândul populațiilor infertile [1]. Cromozomul Y suplimentar la bărbații 47,XYY poate fi generat prin nondisjunția paternă în timpul meiozei II după o meioză I normală sau

poate fi o eroare mitotică post zigotică produsă în timpul dezvoltării embrionare timpurii.

Majoritatea bărbaților cu cariotip 47,XYY au fenotip normal fără manifestări clinice specifice. Din cauza fenotipului heterogen și a lipsei potențiale a simptomelor, diagnosticul poate fi dificil, mai ales dacă fertilitatea nu este compromisă. Datorită acestui fapt diagnosticul unui cariotip XYY este întârziat și doar 15% dintre pacienți sunt diagnosticați cu sindromul XYY.

Câteva studii au raportat că fenotipul copilului cu sindromul XYY include statura înaltă, probleme de comportament și psihiatrice, cum ar fi hiperactivitate cu deficit de atenție și de învățare, întârziere a vorbirii și a dezvoltării limbajului [2,3].

Conform surselor bibliografice au fost raportate mai multe studii clinice privind starea fertilității la bărbații 47,XYY, în care au fost prezentate atât asocieri cu infertilitatea primară cât și cu cea secundară. Deși au fost descrise numeroase cazuri asociate cu infertilitate, cei mai mulți bărbați 47,XYY, sunt fertili. Spermatogeneza la bărbații 47,XYY, în majoritatea cazurilor este normală dar deasemena sunt raportate cazuri cu un număr variabil de spermatozoizi cum ar fi oligoastenoteratozoospermia severă sau chiar azoospermia [4].

**Scopul:** Confirmarea importanței evaluării clinico-citogenetice la bărbații cu spermograma sever afectată, pentru diagnosticul etiologic al infertilității masculine.

**Material și metode.** Subiectul și caracteristicile clinice: Un bărbat de 36 de ani, căsătorit, cu o istorie de 10 ani de infertilitate, a fost îndreptat la consultație genetică. Rezultatele examenului materialului seminal repetat a indicat oligoastenoteratozoospermie. Spermograma a fost efectuată și interpretată după criteriile Organizației Mondiale a Sănătății (OMS) din 2010. Markerii endocrini ai pacientului au arătat o scădere a hormonului foliculostimulant (FSH) de 4,2 mIU / ml (interval normal de 2,0-10,0 mIU / ml), concentrația de Testosteron în ser fiind în limite normale de 2.7 ng / ml (interval normal de 2,0-6,9 ng / ml), la fel și cea a Hormonului luteinizant (LH) de 6.6 mIU / ml (intervalul normal este de 2,0-12,0 mIU / ml), Prolactina 11.0 ng / ml (intervalul normal este de 1.8-17.0 ng / ml) și Hormonul de Stimulare Tiroidiană (TSH) 3.1 mIU / ml (intervalul normal este de 0.3-4.0

mIU/ml). Examenul fizic a relevat: bărbat cu o înălțime de 185 cm și greutatea de 115 kg, fenotipul fiind masculin normal. Organele genitale caracteristice sexului masculin, testiculele coborâte în scrot, dimensiunile fiind în limitele normale.

Examenul citogenetic: Au fost analizate limfocitele din sângele periferic pentru examenul citogenetic conform nomenclurii din 2016 - International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Limfocitele din sângele

periferic au fost cultivate pe medii speciale, după o perioadă de incubare de 72 de ore, s-a adăugat colchicina, a urmat tratament hipotonic și fixare. Cromozomii au fost obținuți în metafază, după care colorați prin tehnica clasică de marcaj G (Giemsa). Numărul de metafaze analizate a fost 30, dintre care 15 cariotipate, nivelul de rezoluție al benzilor fiind 550-575.

Examenul molecular genetic al markerilor comozomului Y și SRY (Sex determining region Y):



Figura 1. Cariotipul 46,XYY la pacientul cu vârsta de 36 de ani (săgeata indică cromozomul Y în plus)

Tabelul 1. Examenul molecular genetic al markerilor comozomului Y și SRY

STS	Regiunea crs.Y	Locus	Secvența primer	Rezultat
SY14	Yp	ZFY	F- ACCRCTGTA CTGACTGTGATTACACR- GCACYTCTTTGGTATCYGAGAAAGT	+
SY14	Yp	SRY	F- GAATATTC CCGCTCTCCGGAR- GCTGGTGCTCCATTCTTGAG	+
sY84	AZFa	DYS 388	F- AGAAGGGTCTGAAAGCAGGT R- GCCTACTACCTGGAGGCTTC	+
sY86	AZFa	DYS 148	F- GTGACACACAGACTATGCTTC R- ACACACAGAGGGACAACCTT	+
sY127	AZFB	DYS 218	F- GGCTCACA AACGAAAAGAAA R- CTGCAGGCAGTAATAAGGGA	+
sY134	AZFB	DYS 224	F- GTCTGCCTCACCATAAAAACG R- ACCACTGCCAAAACCTTCAA	+
sY254	AZFc	DAZ	F- GGGTGT TACCAGAAGGCAAA R- GAACCGTATCTACCAAAGCAGC	+
sY255	AZFc	DAZ	F- GTTACAGGATTTCGGCGTGAT R- CTCGTCATGTGGCAGCCAC	+

ADN-ul genomic a fost extras din limfocitele din sângele periferic al pacientului pentru a fi analizat prin metoda multiplex a reacției de polimerizare în lanț (PCR). S-au folosit situsuri marcate cu secvență (STS) care sunt markeri specifici pentru cromozomul Y pentru genele ce controlează spermatogeneza din locusul azoospermia factor (AZF): SY 81, SY 84 pentru AZFa; SY 127, SY 134 pentru AZFb; SY 254 și SY 255 pentru AZFc. A fost utilizat pentru controlul intern un primer pentru amplificarea genei SRY, de asemenea un primer special pentru amplificarea unui fragment unic atât în cromozomul Y, cât și în cromozomul X ai genei ZFY/ZFX. Produsele PCR s-au electroforezat pe gel de agaroză 2,5%, s-au cercetat în proctorul ultraviolet și s-au fotografiat.

**Rezultate.** În urma examenului citogenetic, pacientul în vârstă de 36 de ani cu fenotip masculin a prezentat un cariotip 46,XYY, fără dovezi de mozaicism, anomalii cromozomiale structurale sau numerice (Figura 1). Analiza moleculară (Tabelul 1) a markerilor specifici ai cromozomului Y- SY 81, SY 84 din regiunea AZFa; SY 127, SY 134 din regiunea AZFb; SY 254 și SY 255 din regiunea AZFc, a evidențiat prezența lor în ADN-ul pacientului, de asemenea prezența ZFX și SRY.

**Discuții:** În cazul prezentat, fenotipul masculin, oligoastenozoospermia, infertilitatea în cuplu de 10 ani și testele hormonale ne conduc la diagnosticarea infertilității masculine primare. În urma examenului molecular-genetic pentru depistarea markerilor specifici ai cromozomului Y nu s-au depistat modificări. Confirmarea cauzei infertilității la bărbatul de 36 de ani a fost posibilă în urma examenului citogenetic, care a evidențiat un cariotip 47,XYY. Deși cariotipul 47,XYY este relativ frecvent, observat la 1 din 1000 de nașteri vii de sex masculin, tabloul clinic al acestui sindrom nu este pe deplin stabilit până în prezent. În plus, nu există manifestări clinice specifice la majoritatea băieților cu cariotip 47,XYY. Acest fenomen se observă și în cazul descris de noi, care nu a prezentat semne clinice sugestive pentru a suspecta o anomalie cromozomială. Motivul pentru care s-a indicat investigarea cariotipului a fost spermograma sever afectată și respectiv infertilitatea. În timp ce bărbații care nu prezintă semne clinice sugestive, modificări severe ale spermogramei și nu este compromisă fertilitatea, în aproximativ 85% cazuri rămân nediagnosticsați [5,6]. Datorită acestui fapt mulți pacienți, ca și în cazul nostru, sunt diagnosticați postpubertar datorită infertilității.

După cum am menționat, pacientul prezintă, la fel ca și majoritatea pacienților, statură înaltă ce se poate datora expresiei a trei copii ale genei SHOX, care este situată pe brațele distale în regiunea pseudoautozomală a cromozomilor-Xp și Yp [7].

Conform datelor bibliografice, majoritatea celor cu cariotipul 47,XYY prezintă spermatogeneză normală, totuși, unii bărbații pot avea diferite grade de afectare a spermatogenezei, de la normal până la azoospermie [7,8,9].

În cazul nostru pacientul a prezentat oligoastenozoospermie, simptom ce se explică prin modul anormal de împerechere cauzat de prezența cromozomului Y suplimentar, în timpul spermatogenezei. În ciuda acestei anomalii cromozomiale, mulți bărbați cu cariotip 47,XYY sunt fertili. Cercetătorii explică acest fenomen, prin faptul că cromozomul Y suplimentar se pierde înainte de meioză conservând astfel fertilitatea la acești pacienți, permițând, realizarea și producerea în mare parte a spermatozoizilor cu cariotip normal [9]. Unii autori susțin ideea că, deși cromozomul Y suplimentar este eliminat în mare parte în primele etape ale spermatogenezei, celulele germinale XYY pot completa meioza și pot produce atât spermatozoizi normali cât și aneuploizi, cu risc crescut atât pentru anomalii ale cromozomilor sexuali cât și autozomali, la pacienții 47,XYY. Prin urmare, la acești pacienți ar putea fi argumentată necesitatea diagnosticului genetic preimplantator (PGD) [10].

**Concluzie:** Sindromul 47,XYY este o patologie rară. Confirmarea infertilității la bărbatul de 36 de ani a fost posibilă în urma examenului citogenetic, care a evidențiat un cariotip 46,XYY. Testarea genetică este indicată bărbaților cu spermograma afectată pentru identificarea infertilității.

#### Bibliografie

1. El-Dahtory F, Elsheikha HM. Male infertility related to an aberrant karyotype, 47,XYY: Four case reports. *Cases J.* 2009;2(1):1-4.
2. Latrech H, Skikar I, El M, Gharbi H, Chra A, Gaouzi A. Case Report Disorder of Sexual Development and Congenital Heart Defect in 47XYY: Clinical Disorder or Coincidence ? 2015;2015.
3. Jo WH, Jung MK, Kim KE, Chae HW. XYY syndrome: a 13-year-old boy with tall stature. 2015;1012:170-3.
4. Boroujeni PB, Sabbaghian M, Dizaji AV, Moradi SZ, Almadani N, Lashkari FM. Clinical aspects of infertile 47 , XYY patients : a retrospective study. *Hum Fertil [Internet].* 2017;0(0):1-6.
5. Geerts M, Steyaert J, Fryns JP. The XYY syndrome: a follow-up study on 38 boys. *Genet Couns.* 2003; 14:267-79.
6. Kim IW, Khadilkar AC, Ko EY, Sabanegh ES. 47,XYY Syndrome and Male Infertility. *Rev Urol [Internet].* 2013;15(4):188-96.
7. Faed M, Robertson J, MacIntosh WG, Grieve J. Spermatogenesis in an infertile XYY man. *Hum Genet.* 1976;347:341-7.
8. Abdel-Razic MM, Abdel-Hamid IA, Elsobky ES. Nonmosaic 47,XYY syndrome presenting with male infertility: Case series. *Andrologia.* 2012;44(3):200-4.
9. Kim IW, Khadilkar AC, Ko EY, Sabanegh ES. 47,XYY Syndrome and Male Infertility. *Rev Urol.* 2013;15(4):188-96.
10. Gonzalez-merino E, Hans C, Abramowicz M, Ph D, Englert Y, Ph D, et al. Aneuploidy study in sperm and preimplantation embryos from nonmosaic 47,XYY men. 2007;88(3).

© Victoria Hlistun<sup>1</sup>, Daniela Blanita<sup>1</sup>, Victoria Lupu<sup>1</sup>, Natalia Golub<sup>1</sup>, Ana Oglinda<sup>1</sup>,  
Svetlana Garaeva<sup>2</sup>, Galina Postolati<sup>2</sup>, Isabela Tarcomnicu<sup>3</sup>, Danae Stambouli<sup>3</sup>,  
Alina Nicolescu<sup>4,5</sup>, Calin Deleanu<sup>4,5</sup>, Natalia Usurelu<sup>1\*</sup>

VICTORIA HLISTUN<sup>1\*</sup>, DANIELA BLANITA<sup>1</sup>, VICTORIA LUPU<sup>1</sup>, NATALIA GOLUB<sup>1</sup>, ANA  
OGLINDA<sup>1</sup>, SVETLANA GARAeva<sup>2</sup>, GALINA POSTOLATI<sup>2</sup>, ISABELA TARCOMNICU<sup>3</sup>, DANAE  
STAMBOULI<sup>3</sup>, ALINA NICOLESCU<sup>4,5</sup>, CALIN DELEANU<sup>4,5</sup>, NATALIA USURELU<sup>1\*</sup>

## NONKETOTIC HYPERGLYCINEMIA – CASE REPORT

<sup>1</sup> Institute of Mother and Child, Chisinau, Republic of Moldova

<sup>2</sup> Institute of Physiology and Sanocreatology of Academy of Science of Moldova, Republic of Moldova

<sup>3</sup> CytoGenomic Medical Laboratory, Bucharest, Romania

<sup>4</sup> “Petru Poni” Institute of Macromolecular Chemistry, Romanian Academy, Iasi, Romania

<sup>5</sup> “C. D. Nenitescu” Centre of Organic Chemistry, Romanian Academy, Bucharest, Romania.

### REZUMAT

#### HIPERGLICINEMIA NONCETOTICĂ – RAPORTARE DE CAZ CLINIC

**Introducere:** Hiperglicinemie noncetotică (HNC) sau “encefalopatia glicinică” este o eroare înăscută a metabolismului glicinei, cauzată de un defect în sistemul de clivare a glicinei (SCG), conducând spre acumularea acestui aminoacid în lichidele și țesuturile organismului. SCG este un complex mitocondrial multienzimatic ce constă din patru subunități proteice: proteina P, proteina H, proteina T și proteina L, codificate de patru gene diferite. Incidența la naștere a HNC la nivel mondial a fost estimată la 1:76,000.

**Caz clinic:** Raportăm o pacientă (2 luni) care se prezenta cu encefalopatie progresivă, convulsii intractabile și progresie rapidă spre comă. Rezultatele analizei petelor uscate de sânge prin cromatografie lichidă cuplată cu tandem mass spectroscopie au fost sugestive pentru hiperglicemie. Drept urmare, au fost apreciați aminoacizii în fluidele biologice umane (lichid cefalorahidian (LCR), plasmă, urină) prin cromatografie de schimb ionic, identificându-se niveluri ridicate ale glicinei în fluidele analizate. Raportul concentrației glicinei în LCR și plasmă, criteriu biochimic pentru HNC a fost 0,147 (normal <0,02), valoare caracteristică pentru forma neonatală. Monitorizarea biochimică a evidențiat o descreștere semnificativă a glicinei în plasmă și LCR după folosirea unei diete hipoglicinice. Suplimentarea terapiei cu benzoat de sodiu a demonstrat o descreștere continuă a nivelului glicinei în plasmă, dar o creștere în LCR și respectiv a raportului concentrației glicinei în LCR și plasmă, indicând o evoluție slabă și un prognostic negativ. Totodată, rezultatele obținute denotă eficiența benzoatului de sodiu prin identificarea cantităților ridicate de acid hipuric în urină.

**Concluzii:** Pentru confirmarea diagnosticului sunt necesare investigații enzimatice și genetice ale sistemului de clivare a glicinei. Un diagnostic timpuriu permite nu doar o abordare terapeutică individuală, dar și consilierea genetică adecvată cu posibilitatea diagnosticului prenatal. Prognosticul este mai informativ când este evaluat în funcție de nivelul glicinei în LCR și de raportul concentrației glicinei în LCR și în plasmă. Copiii care supraviețuiesc au deseori întârzieri de dezvoltare și convulsii refractare.

**Cuvinte-cheie:** Hiperglicemie noncetotică, glicină, sistem de clivare a glicinei, encefalopatie, convulsii, comă.

### РЕЗЮМЕ

#### НЕКЕТОТИЧЕСКАЯ ГИПЕРГЛИЦИНЕМИЯ - КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

**Введение:** Некетотическая гиперглицинемия (НКН) или «глициновая энцефалопатия» является врожденным нарушением обмена глицина, вызванный дефектом в системе расщепления глицина (glycine cleavage system - GCS), который метаболизирует аминокислоту глицин, что приводит к его накоплению в тканях и жидкостях организма. GCS представляет собой митохондриальный мультиферментный комплекс, состоящий из четырех белковых субъединиц: P-белок, H-белок, T-белок и L-белок, кодируемый четырьмя различными генами. Встречаемость заболеваемости во всем мире была оценена в 1:76.000.



**Клинический случай:** Представляется пациент (2 мес.) с энцефалопатией, судорогами и быстрым прогрессированием до комы. Результаты исследования сухих пятнен крови методом тандемной масс-спектрометрии дали основание предположить гиперглицинемию. Следовательно, был проведен аминокислотный анализ в биологических жидкостях (спинномозговая жидкость (СМЖ), плазма, моча) с помощью ионообменной хроматографии, которая выявила повышенный уровень глицина в плазме, моче и СМЖ. Повышенное соотношение глицина в СМЖ к плазме - 0,147 (в норме <0,02) было очевидным и характерным для неонатальной формы НКН. Мониторинг аминокислотного состава показал снижение глицина в плазме и СМЖ после диеты с низким содержанием глицина. После дополнения бензоата натрия к терапии было отмечено продолжительное снижение глицина в плазме, но повышение уровня глицина в СМЖ и соотношения глицина в СМЖ к плазме, что указывает на плохой исход. В то же время, выявление больших концентраций гиппуровой кислоты в моче указывает на эффективность бензоата на снижение глицина в плазме.

**Заключение:** Подтверждающий диагноз требует ферментативного и генетического исследования системы расщепления глицина. Ранний диагноз позволяет не только подбор терапевтического ведения, но и провести надлежащее генетическое консультирование с возможностью пренатальной диагностики.

**Ключевые слова:** некотическая гиперглицинемия, глицин, фермент расщепления глицина, энцефалопатия, судороги, кома.

## Introduction

Glycine (Gly) is one of the non-essential amino acids, essential for a healthy digestive system, for the development and quality of human skeletal muscles, tissues, and structural integrity, as well as for the synthesis of nucleic acids. Glycine also plays a role as an inhibitory neurotransmitter in your central nervous system, particularly in the spinal cord, in the brainstem, and the retina. It is used for the biosynthesis of glutathione, creatine and many non-protein compounds, such as porphyrins and purines [1].

Levels of glycine are primarily regulated by enzymatic degradation. The primary disorder of the glycine is a deficiency of the main catabolic enzyme, the glycine cleavage system (GCS). Glycine is part of many biochemical pathways, but deficiency of the GCS removes the main catabolic breakdown of glycine resulting in increased levels of glycine. The disorder is known as nonketotic hyperglycinemia (NKH, OMIM: 605899), or glycine encephalopathy, inherited as an autosomal recessive trait. All forms of the disorder are characterized by cerebral dysfunction [2]. The GCS breaks glycine down into carbon dioxide and ammonia, and a methyl group is transferred to tetrahydrofolate creating methylene-tetrahydrofolate. The GCS is a mitochondrial enzyme complex consists of the products of four genes - three proteins and one carrier protein [3]: (1) a pyridoxal phosphate-containing protein or glycine decarboxylase (P protein); (2) aminomethyltransferase (T protein); (3) dihydrolipoamide dehydrogenase (L protein); and (4) the hydrogen carrier protein or a lipoic acid-containing protein (H protein). More than 80% of NKH patients have a defect in P-protein, up to 15% have a T-protein defect [4] [5], and H-protein deficiency is rare [6]. In NKH, the enzyme responsible is usually expressed

only in the brain and liver, and the diagnosis is made based on the accumulation of glycine in the cerebrospinal fluid. Most patients present in the early days of life with life-threatening illness [7]. The accumulation of glycine in the brain and neuronal tissue is responsible for many of the clinical signs and symptoms of NKH. Glycine is both an excitatory and inhibitory neurotransmitter and has an excitatory effect when binding to the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor. The excitatory actions cause seizures, while the inhibitory actions cause hypotonia and lethargy. Classical NKH occurs most frequently in the neonatal period (less than one week of age) and less often in the infantile stage (over one week of age) [8]. The incidence of NKH is underestimated, as many patients die undiagnosed. Using publicly available population genotypes, the birth frequency of NKH worldwide was estimated at 1:60,000-76,000 [9] [10].

**Biomarkers for diagnosis:** The diagnosis of NKH relies on amino acid analysis, which should reveal an elevation of glycine in plasma, urine, and CSF. However, due to diurnal variation and differences in disease severity, plasma glycine may not be significantly elevated in all cases. With the exception of some mild late-onset cases of NKH, glycine is always elevated in CSF. Therefore, an elevated glycine CSF:plasma ratio, usually greater than 0.08 in classical NKH, and greater than 0.04 in atypical NKH can be used for diagnosis [22, 23]. However, there have been rare cases of atypical NKH without this elevation [6]. Usually urine organic acid and plasma acylcarnitine profiles are normal [11] [12] [22].

## Case report

We report on a patient (girl, 2 mo old) who was born at term, per vias naturalis, with a normal birth weight

(3800 g) and Apgar scores 7/8 points. This is the second child in a non-consanguineous couple, without suggestive family history. The first child is a healthy 11 years old girl. Within the first 24 hours after birth, the patient became apathetic, drowsy and she was transferred in the intensive care unit connected to artificial ventilation for three weeks. From the third day of life, the child started to develop intractable seizures. Consequently, she entered into a coma for a month. During first month of life she was hospitalized in an unspecialized inborn errors of metabolism medical unit. The EEG showed excessive discontinuity of cerebral activity in the form of burst-suppression pattern and separated in the frontal region with an emphasis on the left isolated acute hypervoluted sharp waves of epileptiform character. CT scan showed cerebral mixed hydrocephalus. She was identified with positive CMV and she received antiviral treatment. At 2 months of life, she has been transferred to third level hospital where has been seen by a specialist in inborn errors of metabolism and dry blood spots have been collected to perform liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). At that time the patient was obnubilated. The ammonia levels were in normal ranges (34–68  $\mu\text{M/L}$ ), but the patient fell into a profound comatose state. Blood spot sample analyzed using LC-MS/MS in CytoGenomic Medical Laboratory revealed elevated glycine values of 1085.9  $\mu\text{M/L}$  (normal: <650.0  $\mu\text{M/L}$ ) and normal levels for other analyzed parameters. Amino acids analysis in biological fluids (CSF, plasma, urine) has been performed by ion-exchange liquid chromatography (IELC) at the Institute of Physiology and SanoCreatology, Chisinau, Moldova. Glycine levels were high in all analyzed fluids, exceeding 5 fold above the normal ranges in plasma (normal: 125–450  $\mu\text{M/L}$ ), 10 fold – in CSF (normal: <20  $\mu\text{M/L}$ ) and 2 fold above the normal ranges in urine. The biochemical hallmark of NKH - elevated glycine CSF:plasma ratio of 0.147 (normal <0.02) [21] was evident. These results are consistent with the neonatal form of NKH. The NMR spectroscopy of urine performed at “Petru Poni” Institute of Macromolecular Chemistry, Iasi, Romania, confirmed the high levels of glycine and revealed normal levels of other organic acids. Consequently, the treatment has been individualized according to the biochemical diagnosis. So, a low glycine diet has been initiated with a special formula and after a month the amino acids have been quantified in plasma, CSF and urine. The glycine levels decreased significantly in plasma and CSF (by 2.5 fold), but the glycine CSF:plasma ratio remained elevated (0.197), which was appreciated as a poor outcome and was in accordance with clinical evolution. At the same time, the glycine level was appreciated in dry blood spots by LC-MS/MS, being in the normal ranges (461.56  $\mu\text{M/L}$ ). The result of NMR spectroscopy showed a decrease of glycine in urine. Being on the diet the clinical manifestations improved, the patient became conscious, but the seizures continued. After a month of low glycine diet, the sodium benzoate

200 mg/kg/day administration has been supplemented for a month with a biochemical retesting. As a result, glycine levels have been decreased in plasma, but it was observed an increasing of the glycine levels in CSF and urine, with the CSF:plasma glycine ratio (1.77) has been increased as well. The result of NMR spectroscopy showed high amounts of glycine and hippuric acid in the urine. The hippuric acid was identified in urine after the sodium benzoate supplementation. As a consequence of this therapeutic approach, the respiration became spontaneous, the clinical manifestations of the child improved a little in dynamics, in general remain as a severe form of NKH and the seizures are continuous.

### Discussion

Nonketotic hyperglycinemia (NKH), also known as glycine encephalopathy, is an autosomal recessive inborn error of glycine metabolism due to a deficiency of the glycine cleavage system (GCS) [4]. Glycine acts both as an excitatory and an inhibitory neurotransmitter. Large amounts of glycine accumulating in the brain have an excitatory effect at the NMDA receptor channel complex located in the hippocampus, cerebral cortex, olfactory bulb, and cerebellum. Overstimulation of these receptors may cause intractable seizures and brain damage [4]. For the diagnosis of NKH, glycine concentration should be analyzed simultaneously in plasma and CSF samples, allowing determination of CSF:plasma glycine ratio. A NKH diagnosis can also be made based on molecular and enzymatic studies. For molecular studies, all three genes GLDC, AMT, and GCSH, coding for the P-, T-, and H-proteins respectively, should be analyzed, either by sequencing or by targeted mutational analysis [13][11]. Mutations in GLDC account for 75%–80% of patients, while mutations in AMT account for 15%–20%, and mutations in GCSH explain less than 1% of NKH [14]. It is important to take into account the substantial genetic heterogeneity of NKH. Genetic mutations have a strong impact on outcome in NKH [15], and large intragenic genetic heterogeneity complicates evaluating the impact of treatment intervention in NKH [16]. Patients with 2 mutations without any residual activity always have severe NKH, make no developmental progress, and have a severe seizure disorder, regardless of treatment even when initiated from birth [17]. The ultimate confirmation of an NKH diagnosis can be made by measuring GCS activity in liver tissue obtained by either biopsy or autopsy [14]. In cases of suspected NKH during pregnancy, enzyme analysis or molecular testing may be conducted on a tissue for chorionic villus sampling [18]. Early diagnosis might be important for genetic counseling and for atypical later forms, where early intervention could be beneficial or with the possibility of prenatal diagnosis.

Treatment for NKH is aimed: (1) to decrease the tissue glycine levels, (2) to treat seizures, and (3) to ameliorate excitotoxicity at the NMDA receptor. No treatment

prevents or repairs neurological damage [4] [11]. The available interventions have attained these aims with reasonable success for the first, with moderate success for the second, and with limited success for the third [19]. The sodium benzoate treatment is used to decrease the accumulation of glycine with or without a glycine restricted diet. Oral sodium benzoate was not very effective since glycine is not metabolized in the brain and conjugation with it can take place only in liver mitochondria, so it helps to decrease plasma glycine levels but has no effect on glycine levels in CSF [20].

**Prognosis of Nonketotic Hyperglycinemia:** A majority of patients die in the neonatal period, presumably many without a diagnosis. In the first days of life, there is a rapid progression to deep coma and respiratory arrest. In those who survive the early crisis, there is little evidence of psychomotor development. Intractable seizures are as a rule. Neonates are hypotonic or flaccid. Eventually, they become spastic, hyperreflexic, and often opisthotonic. Most are microcephalic [8].

### Conclusion

The diagnosis of NKH was made based on clinical manifestations of child with neonatal progressive encephalopathy, deep coma and intractable seizures and complex metabolic work-up. The neonatal screening from DBS using LC-MS/MS was only indicative to follow the complex metabolic work-up through the amino acids evaluation in body fluids as plasma, CSF and urine. The glycine CSF:plasma ratio was the most important value for diagnosis, monitoring and prognosis of disease. The low glycine diet was appreciated as the most effective therapy to decrease plasma and CSF glycine levels, while the sodium benzoate supplementation helped to decrease plasma, but not CSF glycine level. In the presented case, the glycine CSF:plasma ratio remained increased determining severe form and poor evolution.

### Bibliography:

[1] N.V. Bhagavan, Chung-Eun Ha. "Amino Acids, Essentials of Medical Biochemistry with Clinical Cases, pp. 19–27, 2011, doi: 10.1016/B978-0-12-095461-2.00003-5.

[2] K. M. Gibson and C. Dionisi-vici, *Physician's Guide to the Diagnosis, Treatment, and Follow-Up of Inherited Metabolic Diseases*. 2014.

[3] Goro Kikuchi, Yutaro Motokawa, Tadashi Yoshida and Koichi Hiraga. "Glycine cleavage system: reaction mechanism, physiological significance, and hyperglycinemia," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 84, no. 10, pp. 246–263, 2008, doi: 10.2183/pjab/84.246.

[4] K. Tada and S. Kure, "Non-ketotic hyperglycinaemia: Molecular lesion, diagnosis and pathophysiology,"

*J. Inherit. Metab. Dis.*, vol. 16, no. 4, pp. 691–703, 1993, doi: 10.1007/BF00711901.

[5] J. R. Toone, D. A. Applegarth, M. B. Coulter-Mackie, and E. R. James, "Biochemical and molecular investigations of patients with nonketotic hyperglycinemia," *Mol. Genet. Metab.*, vol. 70, no. 2, pp. 116–121, 2000, doi: 10.1006/mgme.2000.3000.

[6] K. Hiraga, H. Kochi, K. Hayasaka, G. Kikuchi, and W. L. Nyhan, "Defective glycine cleavage system in nonketotic hyperglycinemia. Occurrence of a less active glycine decarboxylase and an abnormal aminomethyl carrier protein," *J. Clin. Invest.*, vol. 68, no. 2, pp. 525–534, 1981, doi: 10.1172/JCI110284.

[7] G. M. Kapalka, "Substances Involved in Neurotransmission," *Nutr. Herb. Ther. Child. Adolesc.*, pp. 71–99, 2010, doi: 10.1016/b978-0-12-374927-7.00004-2.

[8] W. L. Nyhan and R. Haas, *Inborn Errors of Amino Acid Metabolism*, Fifth Edit. Elsevier Inc., 2014.

[9] D. A. Applegarth, J. R. Toone, and R. Brian Lowry, "Incidence of inborn errors of metabolism in British Columbia, 1969-1996," *Pediatrics*, vol. 105, no. 1 II, p. 109, 2000.

[10] C. R. Coughlin *et al.*, "The genetic basis of classic nonketotic hyperglycinemia due to mutations in GLDC and AMT," *Genet. Med.*, vol. 19, no. 1, pp. 104–111, 2017, doi: 10.1038/gim.2016.74.

[11] J. L. K. Van Hove *et al.*, "Benzoate treatment and the glycine index in nonketotic hyperglycinaemia," *J. Inherit. Metab. Dis.*, vol. 28, no. 5, pp. 651–663, 2005, doi: 10.1007/s10545-005-0033-x.

[12] S. H. Wei, W. C. Weng, N. C. Lee, W. L. Hwu, and W. T. Lee, "Unusual spinal cord lesions in late-onset non-ketotic hyperglycinemia," *J. Child Neurol.*, vol. 26, no. 7, pp. 900–903, 2011, doi: 10.1177/0883073810393965.

[13] S. Kure, "Two novel laboratory tests facilitating diagnosis of glycine encephalopathy (nonketotic hyperglycinemia)," *Brain Dev.*, vol. 33, no. 9, pp. 753–757, 2011, doi: 10.1016/j.braindev.2011.03.001.

[14] J. L. K. Van Hove *et al.*, "Benzoate therapy and carnitine deficiency in non-ketotic hyperglycinemia," *Am. J. Med. Genet.*, vol. 59, no. 4, pp. 444–453, 1995, doi: 10.1002/ajmg.1320590410.

[15] M. A. Swanson *et al.*, "Biochemical and molecular predictors for prognosis in nonketotic hyperglycinemia," *Ann. Neurol.*, vol. 78, no. 4, pp. 606–618, 2015, doi: 10.1002/ana.24485.

[16] K. J. Bjoraker *et al.*, "Neurodevelopmental Outcome and Treatment Efficacy of Benzoate and Dextromethorphan in Siblings with Attenuated Nonketotic Hyperglycinemia," *J. Pediatr.*, vol. 170, pp. 234–239, 2016, doi: 10.1016/j.jpeds.2015.12.027.

[17] S. H. Korman, I. D. Wexler, A. Gutman, M. O.

- Rolland, J. Kanno, and S. Kure, "Treatment from birth of nonketotic hyperglycinemia due to a novel GLDC mutation," *Ann. Neurol.*, vol. 59, no. 2, pp. 411–415, 2006, doi: 10.1002/ana.20759.
- [18] D. A. Applegarth, M. O. Rolland, J. R. Toone, M. Coulter-Mackie, and R. Saura, "Molecular prenatal diagnosis of non-ketotic hyperglycinemia (glycine encephalopathy)," *Prenat. Diagn.*, vol. 22, no. 3, pp. 266–267, 2002, doi: 10.1002/pd.293.
- [19] J. M. Perlman and J. J. Volpe, *Amino Acids*, Sixth Edit. Elsevier Inc., 2017.
- [20] I. Krieger, E. S. Winbaum, and A. B. Eisenbrey, "Cerebrospinal fluid glycine in nonketotic hyperglycinemia. Effect of treatment with sodium benzoate and a ventricular shunt," *Metabolism*, vol. 26, no. 5, pp. 517–524, 1977, doi: 10.1016/0026-0495(77)90095-6.
- [21] M. Yudkoff Glycine Metabolism: Nonketotic Hyperglycinemia. Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, et al., editors. *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects*. 6th edition. Philadelphia:Lippincott-Raven; 1999.
- [22] Burgard P, Luo X, Hoffmann GF. Phenylketonuria. *Pediatric Endocrinology and inborn errors of metabolism*. McGraw Hill; 2009.
- [23] Van Hove J, Coughlin II C, Scharer G. Glycine encephalopathy. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJH, editors. *GeneReviews(R)*. WA: University of Washington, Seattle; 2002.

© Diana Munteanu<sup>1,2\*</sup>, Victoria Hlistun<sup>1</sup>, Elena Samohvalov<sup>2</sup>,  
Daniela Blăniță<sup>1</sup>, Adela Stamat<sup>2</sup>, Lorina Vudu<sup>2</sup>, Natalia Ușurelu<sup>1\*</sup>

DIANA MUNTEANU<sup>1,2\*</sup>, VICTORIA HLISTUN<sup>1</sup>, ELENA SAMOHVALOV<sup>2</sup>,  
DANIELA BLĂNIȚĂ<sup>1</sup>, ADELA STAMATI<sup>2</sup>, LORINA VUDU<sup>2</sup>, NATALIA UȘURELU<sup>1\*</sup>

## SYNDROMAL DISLIPIDEMIA - CASE REPORT OF A FAMILY WITH ALSTROM SYNDROME

<sup>1</sup> - Institute of Mother and Child, Chisinau, Republic of Moldova

<sup>2</sup> - "Nicolae Testemitanu" State University of Medicine and Pharmacy, Republic of Moldova

### РЕЗЮМЕ

#### СИНДРОМАЛЬНОЕ ДИСЛИПИДЕМИЯ - КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ СЕМЬИ С СИНДРОМОМ АЛЬСТРЁМА.

Синдром Альстрёма. (ALMS) является аутосомно-рецессивным заболеванием, вызванным мутациями в гене ALMS1. Представляется случай семьи (мальчик - 9 мес. и девочка 17 - лет), в которой первоначально диагностирован нистагм, фотофобия и дистрофия сетчатки. Физическое обследование и анализ истории болезни предполагали синдром Альстрёма. Анализ секвенирования экзома выявила в гене ALMS1 две гетерозиготные мутации: (c.8164C>T (p.Arg2722 \*) в экзоне 10 и c.8656 C>Tp.(Arg2886) chr2) гена ALMS1, что подтвердило диагноз. Пациенты с синдромом Альстрёма достигают взрослого возраста со значительным бременем заболевания, которое постоянно снижает качество их жизни. Дистрофия сетчатки, ожирение, инсулинорезистентность сахарный диабет 2 типа, двусторонняя нейросенсорная тугоухость и низкий рост – вот лишь некоторые из многих проблем, возникающих при ведении этих пациентов. Дислипидемию при тщательном наблюдении и раннем выявлении можно лечить, следуя изменением образа жизни, а фармакологические вмешательства необходимы для эффективного лечения с целью предотвращения сердечно-сосудистых заболеваний. Дислипидемия является как правило результатом несбалансированной диеты, но в данном случае, нарушение представлено как симптом проявления генетического расстройства (Alström syndrome).

**Ключевые- слова:** синдром Альстрёма; АЛМС; ожирение; инсулинорезистентность; диабет

### REZUMAT

#### DISLIPIDEMIA SINDROMALĂ – RAPORTARE DE CAZ CLINIC A UNEI FAMILII CU SINDROM ALSTRÖM

Sindromul Alström (ALMS) este o patologie recesivă autozomală cauzată de mutații ale genei ALMS1. Raportăm cazul unei familii cu 2 copii (băiat 9 luni și o fetiță de 17 ani), diagnosticați inițial cu nistagmus, fotofobie și distrofia retinei. Datele anamnestice, obiective și clinice au determinat suspectia sindromului Alström. Analiza prin secvențiere a întregului exon a relevat 2 variante heterozigote ale genei ALMS1: (c.5926deIGp Glu19765erfs.8chr2.73679577 și c.8656 C>Tp. (Arg2886) chr2.737177739). ceea ce a confirmat diagnosticul. Pacienții cu sindromul Alström ating vârsta adultă cu o povară semnificativă a bolii care le reduce continuu calitatea vieții. Distrofia retinei, obezitatea, diabetul zaharat de tip 2, insulinorezistența, surditatea neuro-senzorială bilaterală și hipostatura sunt doar câteva dintre numeroasele provocări ale managementului acestor pacienți. Aceste tulburări pot fi controlate prin detectarea lor precoce și monitorizarea adecvată. Dislipidemia ușoară până la moderată poate fi gestionată prin respectarea modificărilor stilului de viață, iar intervențiile farmacologice sunt esențiale pentru un tratament eficient în vederea prevenirii bolilor cardiovasculare. Dislipidemia este generată de o alimentație dezechilibrată, dar în cazul prezentat, aceasta a servit ca unicul semn biochimic din cadrul unui sindrom genetic (Alström syndrome).

**Cuvinte-cheie:** Sindrom Alström; ALMS; obezitate, insulinorezistență; diabet

## Introduction

Alström syndrome is a rare genetic autosomal recessive disease characterized by multi-systemic involvement, produced by a mutation in the *ALMS1* gene, located on chromosome 2p13 [3]. It has a prevalence of < 1/100 000. Alström syndrome (AS) was first described in 1959 by Alström et al. [1,2]. The *ALMS1* gene contains instructions for creating (encoding) a specific protein known as ALMS1. The role and function of this protein in the body is involved in ciliary function, cell cycle control and intracellular transport. The ALMS1 protein is expressed in all organ tissues of the body (ubiquitously expressed). Regarding the fact that symptoms of Alström syndrome vary greatly among family members, researchers suspect that additional genetic or environmental factors may play a role in the development and progression of Alström syndrome. This gene encodes a protein whose mutation leads to progressive fibrosis of various organs characterized by cone-rod dystrophy, hearing loss, childhood truncal obesity, insulin resistance and hyperinsulinemia, type 2 diabetes, hypertriglyceridemia, short stature in adulthood, cardiomyopathy, and progressive pulmonary, hepatic, and renal dysfunction. Symptoms first appear during childhood and the progressive development of multiorgan pathology reduces life expectancy. [2,4].

Prior to the discovery of *ALMS1* mutations, the diagnosis was made solely based on phenotype. However, the high degree of variability, even within families, creates difficulties for a universal definition. [5]. Ocular involvement is a cardinal sign of AS [5], that leads to progressive visual dysfunction and blindness, usually during the second decade of life. In addition, around 80% will develop neurosensory hearing loss that will progress throughout life [1,5,6]. Birth weight is normal in infants with Alström syndrome, but excessive eating beyond the normal need to satisfy hunger (hyperphagia) and rapid weight gain may occur during the first year of life. Some affected children develop childhood truncal obesity, a condition in which fat is disproportionately distributed on the abdomen and chest rather than the arms and legs. As affected individual's age rises, some may see their body weight fall, often regaining normal or slightly above-average weight for their size. Childhood obesity is a common and early manifestation that is usually accompanied by a characteristic phenotypic expression. The affected individuals often develop type 2 diabetes with insulin resistance and hyperinsulinemia, as well as hypertriglyceridemia. Affected individuals may also have elevated levels of certain fats (lipids) in the blood (hyperlipidemia). Hyperlipidemia is usually characterized by elevated triglycerides in the blood (hypertriglyceridemia), which can cause inflammation of the pancreas (pancreatitis). Pancreatitis can be associated with abdominal pain, chills, jaundice, weakness, sweating, vomiting, and weight loss. The prognosis is variable and will depend on the progression of the involvement of the different organs and systems. Life expectancy is usually less than 50 years. [5]. Although there is no specific

treatment, and measures should be targeted to treat damage to each of the different systems, early diagnosis, a multidisciplinary approach and appropriate prevention strategies will slow progression and thereby improve patient survival.

**Case report.** We are reporting on a case of a non-consanguineous healthy couple that required the first medico-genetic consultation in relation to their 3 children. They observed that their youngest child started to develop the same symptoms from the age of 5 months similar to those as their oldest girl, that gradually developed a severe mental retardation after 2 years old, uninvestigated before. Their oldest girl from the first pregnancy of mother was born at term without any peculiarities in pregnancy or at birth. Her neuropsychic and motor development during the first two years was practically certified in acceptable limits, with some particularities of excessive weight gain (more than 1 kg/month), somewhat short of energy, speech development deficiency (until 2 years old she tried to repeat only some syllables), overall suggestive of Prader-Willi Syndrome, but not investigated later. At the age of 6 months, during routine neurological follow-up nystagmus and photophobia have been attested, for which no specific investigations were conducted. After the age of 2 years old, a progressive neuropsychomotor delay was observed with the occurrence of stereotypical movements, signs of atypical autism, gradual loss of vision (at the age of 14-15) and cognitive acquisition, including verbal activity. There were suspected some pathological conditions during her pediatric control, but no specific investigations to confirm the diagnosis were recommended at that time. From the age of 13 years old there were seizures attested, partially responsive to anti-epileptic treatment. Presently, the older girl is 17 years old, with severe neuropsychomotor delay, complete loss of vision, she can hear, move with support, often in a flexed position, has some elementary autonomy (can go to the bathroom alone, led by someone because she cannot see), eats unaided, does not talk, sometimes experiences seizures. No metabolic and/or genetic investigations were performed before to elucidate the diagnosis. From the secondary pregnancy, the couple has a healthy girl of 9 years old. From the third pregnancy, the family has a boy born at term by caesarean section with normal body weight (2890g). During pregnancy, mother mentioned anxiety, a non-invasive prenatal (extended) test has been performed without any major suspicion, including Prader-Willi Syndrome, for which the first girl was suspected in her first year of life. In the first months of life, parents had no concerns regarding developmental milestones of child. In contrast, from the age of 5 months old, a horizontal left nystagmus occurred and after ophthalmologic examination partial optic atrophy was determined. Then, at the 9 months of age, the child developed pronounced distressing photophobia

and photosensitivity when outside in daylight. All other developmental categories were appreciated within normal limits. He has been reviewed by pediatricians, neurologists and geneticists. Due to the similarity between the boy's clinical manifestations (horizontal nystagmus, photophobia) and the onset manifestations of the affected girl (table 1) there was a genetic disorder

not raise the suspicion of a dysfunction in an extended panel.

Organic acids in the urine were also negative. At the same time the karyotype was recommended to be analyzed, which revealed normal result (46, XY). Considering the insignificant results of the biochemical and metabolic investigations for the establishment of a final diagnosis,

**Table 1. Clinical manifestations in affected children.**

Clinical presentation	Patient I	Patient II
Sex	Boy	Girl
Age	9 months old	17 years old
Birth weight (g)	2890	3150
Diminished visual acuity	-	+ (observed at 2 years old)
Photophobia	+	+
Nystagmus	+ (from 5 months old)	+
Reduced ERG	+	+
Sensorineural hearing loss	-	Conductive hypoacusis (5 years)
Obesity	+ (2 years)	+ (4 years)
Insulin resistance	-	+(14 years old)
Diabetes	-	+(15 years old)
Endocrine involvement	Subclinical hypothyroidism (2 years)	Subclinical hypothyroidism (4 years)
Hpertriglyceridemia	+ (2 years old)	+ (3 years old)
Renal involvement	-	Episodes of pyelonephritis
Orthopedic involvement	-	Scoliosis (5 years)
Liver involvement	-	Elevated transaminase levels (5 years)

suspected and probably an inborn error of metabolism. There were considered many disorders as Neuronal Ceroid Lipofuscinosis or a multisystem affecting disease as mitochondrial disease or even Congenital Disorder of Glycosylation as well. Considering the difficulty of investigation of the the girl, a decision was made to begin the investigation of the boy through biochemical and metabolic work-up analysis has been performed.

The biochemical analysis of blood revealed low Fe-2,86 mmol/L(ref. val.: 4,8-19,5 mmol/L), high level of Cholesterol-8,05 mmol/L(ref. val.: 0-5,2 mmol/L), LDL-Cholesterol-5,64 mmol/L(ref. val.: <2,59 mmol/L), Triglycerides-2.06 mmol/L(ref. val.: <1,7 mmol/L, upper limit-1,7-2,25 mmol/l) and LDH-586

U/L (ref. val.:207-414 mg/L). The metabolic investigation showed slightly elevated value of Ammonia-79,8 μmol/L (ref. val.:16-60 μmol/L) and Lactic Acid-2,4 mmol/L(ref. val.: 0-2,2 mmol/L) that were currently insignificant. There were determined extremely minor deviations in the plasma and urinary amino acid content that were not suggestive of any primary disorders of amino acid metabolism or their reabsorption. Testing for metabolic diseases (aminoacidopathies, organic acidurias, fatty acid oxidation defects) by LC-MS/MS from DBS method did

the sequencing of the whole exome (WES) of two affected children (the youngest boy and the oldest girl) and the parents has been recommended. The WES identified two heterozygous variants in the *ALMS1* gene (table 2).

Interpretation:

- c.5926delGp (Glu19765erfs.8) which leads to a frameshift effect, results in a premature stop codon, and subsequent mRNA degradation (nonsense-mediated) or truncation of the protein. Parallel analysis of parents and the affected sister WES data revealed that the sister and mother are heterozygous carriers of this variant. The variant has already been described in the literature as pathogenetic for mitogenic cardiomyopathy, which might be considered as early presentation of the Alström syndrome (PMID: 24595103). Considering the available information the variant is classified as pathogenic.
- C.8656 C>Tp.(Arg2886) which creates a premature stop codon, and subsequent mRNA degradation (nonsense-mediated decay) or truncation of the protein. Parallel analysis of parents and the affected sister WES data revealed that the sister and father are heterozygous carriers of the detected variant. The variant has already been described in the literature in

**Table 2. The results of WES of affected children and the parents.**

Gene (isoform)	OMIM-P (Mode of inheritance)	Variant	Index	Sister	Mother	Father	MA gnomAD	Literature	Classification
ALMS1(NM_015120.4)	203800(AR)	c.5926delGp (Glu19765erfs.8) chr2.73679577	het.	het.	het.	-	0	24595103	Pathogenic
		c.8656 C>Tp. (Arg2886) chr2.73717739	het.	het.	-	het.	het.	17594715	Pathogenic

patients with Alström syndrome (PMID: 17594715, 24463507). It is found in 0.00041% of the overall population (1 heterozygous, no homozygous). Considering the available information, this variant is also classified as pathogenic.

- Given the obtained results, the index and the affected sister are compound heterozygous for two pathogenic variants in the *ALMS1* gene. Considering the supportive phenotype of the patient and his affected sister and compound heterozygosity of two pathogenic variants in the *ALMS1* gene, a genetic diagnosis of Alström syndrome is confirmed for both of them.

### Discussion

Alström Syndrome is an autosomal recessive, single gene disorder (ALMS1-2p13) characterized by childhood obesity associated with hyperinsulinemia, and type 2 diabetes mellitus, progressive cone-rod dystrophy leading to blindness, sensorineural hearing loss and function loss of multiple organs [1,6,7]. In our case, the initial manifestations were visual problems - nystagmus, photophobia and occasionally controlled dyslipidemia, presented in the first year of life. As Marshall et al. (2007) categorized the features of Alström syndrome, our patient (the oldest girl) had similar findings like a progressive neuropsychomotor delay with the occurrence of stereotypical movements, signs of atypical autism, gradual loss of vision (at the age of 14-15) and cognitive acquisition, including verbal activity [1]. It was reported in an investigation paper with 182 cases of Alström Syndrome that 38% of patients had no cardiac failure (age range, 2-33 years), although there is a risk for developing dilated cardiomyopathy (DCM) in the future. Dilated cardiomyopathy occurred in 62% of patients. They notified that patients could be divided into two groups: infant and adult onset. Infant onset patients consisted 43% of patients, most of them survived and had no cardiac dysfunctions during three years. In contrary, between the age of 5 and 36 years, 24 of these patients had DCM recurrence and 10 had died. The second group consisted 18% of patients who had no cardiac failure in infancy but

developed DCM as adolescents or adults (age range, 7-32 years) [4]. According to our patient's echocardiography, there were no congenital or other cardiac problems observed. Otherwise, with this information, we took him to cardiac controls with a period of six months. We know that DCM can develop in any time in the rest of his life. Marshall et al. reported 35 patients of 182 had gastroesophageal reflux. They also reported 92% of patients had elevation of liver transaminase levels [8]. But our patient had normal rate of liver transaminase levels and no gastro-esophageal reflux at this stage. The hypertension prevalence in Alström Syndrome is 30% [8], our patient was not hypertensive and kidney function tests were normal. We planned controls of these tests because of renal failure risk in the future.

Referring to the biochemistry results of suspected boy and his phenotype, there were no specific symptoms that could be considered suggestive for a genetic disease. But regarding the fact that there is another similar case in family history, dyslipidemia may be considered as a symptom of a genetic syndrome. Dyslipidemia in childhood usually appears due to genetic or secondary causes as familial hypercholesterolemia or hereditary hypertriglyceridemia, sometimes as a consequence of a high fat diet. The biochemistry analyses of parents' fat profile excluded familial dyslipidemia. To conclude, the hyperlipidemia (high cholesterol and triglycerides) attested in this child, may suggest a family disorder, but being accompanied by visual problems and especially related with nystagmus and photophobia, it must be taken into consideration and suppose Alström Syndrome, with very poor outcome.

**Conclusion:** Patients with Alström syndrome reach the adult age with a significant burden of the disease that continuously reduces their quality of life. The cone-rod retinal dystrophy, obesity, insulin resistance type 2 diabetes mellitus, bilateral neurosensory deafness and short stature are just few of the many challenges in the management of these patients. These disorders can be controlled with close observation and early detection.



Most patients with mild to moderate dyslipidemia can be managed by adherence to lifestyle modifications and pharmacologic interventions that are essential for effective treatment in order to prevent cardiovascular diseases. Dyslipidemia should be considered not only as a manifestation of unhealthy diet or obesity complication, but this case demonstrated that should be taken into consideration as a sign of a genetic disorder like Alström syndrome.

#### Bibliography:

1. C.H. Alström, B. Hallgren, L.B. Nilsson, H. Asander. Retinal degeneration combined with obesity, diabetes mellitus and neurogenous deafness: a specific syndrome (not hitherto described) distinct from Laurence-Moon-Biedl syndrome; a clinic endocrinological and genetic examination based on a large pedigree. *Acta Psychiatr Neurol Scand.*, 34 (1959), pp. 1-35 [Medline](#)
2. A.N. Makaryus, M.E. Zubrow, J.D. Marshall, L.D. Gillam, J.R. Mangion. Cardiac Manifestations of Alström Syndrome: Echocardiographic Findings. *J Am Soc Echocardiogr.*, 20 (2007), pp. 1359-1363 <http://dx.doi.org/10.1016/j.echo.2007.04.033> | [Medline](#)
3. F. Corbetti, R. Razzolini, V. Bettini, *et al.* Alström syndrome: cardiac magnetic resonance findings. *Int J Cardiol.*, 167 (2013), pp. 1257-1263 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2012.03.160> | [Medline](#)
4. T. Hearn, G.L. Renforth, C. Spalluto, *et al.* Mutation of ALMS1, a large gene with a tandem repeat encoding 47 amino acids, causes Alström Syndrome. *Nat Genet.*, 31 (2002), pp. 79-83 <http://dx.doi.org/10.1038/ng874> | [Medline](#)
5. T. Joy, H. Cao, G. Black, *et al.* Alström syndrome (OMIM 203800): a case report and literature review. *Orphanet J Rare Dis.*, 2 (2007), pp. 49 <http://dx.doi.org/10.1186/1750-1172-2-49> | [Medline](#)
6. J.D. Marshall, S. Beck, P. Maffei, J.K. Naggert. Alström syndrome. *Eur J Hum Genet.*, 15 (2007), pp. 1193-1202 <http://dx.doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201933> | [Medline](#)
7. Collin, G.B., Marshall, J.D., Ikeda, A., *et al.* (2002) Mutations in ALMS1 cause obesity, type 2 diabetes and neurosensory degeneration in Alström syndrome. *Nature Genetics*, 31, 74-78.
8. Marshall, J.D., Bronson, R.T., Collin, G.B., *et al.* (2005) New Alström syndrome phenotypes based on the evaluation of 182 cases. *Archives of Internal Medicine*, 165, 675-683. doi:10.1001/archinte.165.6.675

## ÎN AJUTORUL MEDICULUI PRACTICIAN

<sup>1</sup>Ana Mișina, <sup>1</sup>Patricia Harea, <sup>2</sup>Liliana Fuior-Bulhac, <sup>3</sup>V. Petrovici

<sup>1</sup>Ana Mișina, <sup>1</sup>Patricia Harea, <sup>2</sup>Liliana Fuior-Bulhac, <sup>3</sup>V. Petrovici

### TUMORILE OVARIENE STROMALE: ANALIZA A 23 DE CAZURI CONSECUTIVE

<sup>1</sup>Secția ginecologie chirurgicală, <sup>2</sup>secția imagistică, <sup>3</sup>secția patomorfologie,  
IMSP Institutul Mamei și Copilului, Chișinău, Republica Moldova

#### Summary

#### OVARIAN STROMAL TUMORS: ANALYSIS OF 23 CONSECUTIVE CASES Mishina A., Harea P., Fuior-Bulhac L., Petrovici V.

**Introduction:** Stromal ovarian tumors (SOT) are rare formations and constitute from 1% to 4.7% of the structure of ovarian neoplasms. The aim of the study was to investigate the results of surgical treatment of SOT.

**Material and Methods:** The data of 23 patients, operated in our unit were analyzed with the final histological result of SOT.

**Results:** The mean age of the patients was  $45.7 \pm 2.9$  years (95% CI: 39.77–51.62). SOT were more frequently unilateral than bilateral – 91.3% vs. 8.7%. According to the data of the radiological methods of investigation the average maximum dimensions were  $7.9 \pm 0.6$  cm (from 4.5 to 15.3), and the volume of the formations –  $291.6 \pm 85.4$  cm<sup>3</sup> (95% CI: 114.4–468.9). In 5 (21.7%) cases, free fluid was visualized in the abdominal cavity and intraoperatively the presence of ascitic fluid in an average volume of  $221.3 \pm 24.1$  ml (95% CI: 144.8–297.7) was confirmed. The volume of surgery for SOT included: subtotal hysterectomy + bilateral adnexectomy (n=8, 34.8%), subtotal hysterectomy + unilateral adnexectomy (n=1, 4.3%), bilateral adnexectomy (n=2, 8.7%), adnexectomy (n=7, 30.5%), bilateral tumorectomy (n=1, 4.3%) and tumorectomy (n=4, 17.4%). At the histological examination (n=25), the following morphological variants of SOT were established: thecoma – 12 (48%), fibroma – 8 (32%) and fibrothecoma – 5 (20%). Follow-up was  $66.1 \pm 7.7$  months (95% CI: 50.03–81.97), all patients were asymptomatic without recurrence.

**Conclusions:** SOT is more common in perimenopausal and menopausal patients. More commonly it is diagnosed as uterine fibroids or malignant ovarian tumors. Performing tumorectomies in the case of SOT is the appropriate method of treatment in patients of reproductive age.

**Key words:** ovary • fibroma • thecoma • surgery • pathology

#### РЕЗЮМЕ

#### СТРОМАЛЬНЫЕ ОПУХОЛИ ЯИЧНИКА: АНАЛИЗ 23 ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНЫХ СЛУЧАЕВ Мишина А., Харя П.Н., Фуйор-Булгак Л.И., Петрович В.

**Введение:** Стромальные опухоли яичника (СОЯ) – достаточно редкие опухоли и составляют от 1% до 4.7% в структуре новообразований яичников. Цель исследования – изучить ближайшие и отдаленные результаты хирургического лечения СОЯ.

**Материалы и методы:** Проанализированы данные 23 пациенток, оперированных в отделении хирургической гинекологии ИМ и Р в период с 2008 по 2018 гг. с финальным гистопатологическим диагнозом СОЯ (фиброма, фибротекома, текома). Для диагностики использованы ультразвукография, компьютерная томография или магнитнорезонансная томография, онкомаркеры.

**Результаты:** Средний возраст пациенток составил  $45.7 \pm 2.9$  лет (95% CI: 39.77–51.62). Пациентки в возрасте <40 лет встречались статистически достоверно реже ( $p < 0.01$ ), чем >40 лет и соотношение данных возрастных групп составило соответственно 26.1% vs. 73.9%. СОЯ встречались чаще односторонние, чем двухсторонние

и данное соотношение составило 91.3% (21/23) vs. 8.7% (2/23). По данным радиологических методов исследования средний максимальный размер опухолей составил  $7.9 \pm 0.6$  см (от 4.5 до 15.3), а объем новообразований –  $291.6 \pm 85.4$  см<sup>3</sup> (95% CI: 114.4–468.9). В 5(21.7%) случаях визуализировалась свободная жидкость в брюшной полости и интраоперационно подтвердилось наличие прозрачной асцитической жидкости в среднем объеме  $221.3 \pm 24.1$  мл (95% CI: 144.8–297.7). Объем оперативного вмешательства при СОЯ включал: субтотальная гистрэктомия + двухсторонняя аднексэктомия (n=8, 34.8%), субтотальная гистрэктомия + односторонняя аднексэктомия (n=1, 4.3%), двухсторонняя аднексэктомия (n=2, 8.7%), аднексэктомия (n=7, 30.5%), двухсторонняя туморэктомия (n=1, 4.3%) и туморэктомия (n=4, 17.4%). При гистологическом исследовании (n=25) было установлено следующие морфологические варианты стромальных опухолей яичника: текомы яичника – 12(48%), фибромы – 8(32%) и фибротекомы – 5(20%). Срок наблюдения составил в среднем  $66.1 \pm 7.7$  мес. (95% CI: 50.03–81.97), все пациентки бессимптомны, рецидива опухолей не наблюдалось.

**Выводы:** СОЯ чаще наблюдаются у перименопаузальных и менопаузальных пациенток. Достаточно часто диагностируются как фибромы матки и злокачественные опухоли яичника. Выполнение туморэктомии при СОЯ является адекватным методом лечения у пациенток репродуктивного возраста.

**Ключевые слова:** яичник • фиброма • текома • хирургия • патология

**Introducere.** Tumorile ovariene stromale (TOS) – sunt tumori benigne destul de rar întâlnite ce se referă la grupul tumorilor stromei cordonului sexual și constituite de la 1% până la 4.7% în structura neoplasmelor ovariene [1, 2]. Până în prezent în literatură anglo-saxonă au fost publicate doar câteva serii de paciente cu TOS cu un număr mai mare de 20 de cazuri în fiecare studiu [2–10].

Diagnosticul preoperator exact a TOS este destul de dificil și în jumătate din cazuri aceste formațiuni sunt interpretate ca fibrom uterin sau tumori ovariene maligne [2, 3, 11–15]. Actualmente s-au trasat tendințe în studierea mai detaliată a caracteristicilor radiologice a TOS în baza imagisticii prin rezonanță magnetică (IRM) și Tomografia computerizată (TC) [4–6, 8, 16, 17].

Intervenția chirurgicală rămâne unica metodă de tratament în cazul TOS iar volumul ei depinde de câțiva factori cum ar fi vârsta pacientelor, dimensiunile și caracterul tumorii ovariene, diagnosticului preoperator [3, 7]. Ținând cont de perspectiva favorabilă și practic lipsa recidivelor a TOS actualmente s-a trasat o tendință spre efectuarea operațiilor ovarmenajante la pacientele de vârstă fertilă [6, 7, 12, 13, 15].

Scopul studiului - cercetarea particularităților manifestărilor clinice, caracteristicilor imagistice și semnelor morfologice inclusiv rezultatele precoce și la distanță a tratamentului chirurgical a TOS.

**Material și metode.** Au fost analizate datele a 23 paciente operate în secția ginecologie chirurgicală al Institutului Mamei și Copilului în perioada 2008 - 2018 cu rezultatul histologic final de TOS (fibrom, fibrotecom, tecom). Au fost luate în considerare următoarele caracteristici: (1) manifestările clinice; (2) ultrasonografice (velocimetria Doppler); (3) datele tomografiei computerizate și imagisticii prin rezonanța magnetică; (4) datele morfologice. *Ultrasonografia (USG)* a fost efectuată cu aparatele Esaote MyLab 15 și Sono Scape 8000 (China) cu utilizarea tran-

sductoarelor convexe: pentru examenul transabdominal 3-5 MHz și transvaginal (rectal) 5–7.5 MHz. Volumele au fost calculate folosind formula elipsoid prolate ( $0.523 \times \text{înălțime} \times \text{lungime} \times \text{lățime}$ ). La evaluarea gradului de vascularizare sangvină a tumorii a fost utilizat sistemul dopplerografic cu puncte Timmerman D. et al. (2000), unde: 1 punct – semnalul doppler lipsește; 2 puncte – un semnal minim; 3 puncte – semnal color moderat și 4 puncte – semnal dopplerografic pronunțat [9].

*Tomografia computerizată (TC)* a fost efectuată cu aparatul Aquilion 64 (Toshiba, Japan). Prin această metodă a fost suplimentar determinat indexul densitometric (Hounsfield unit - HU) pentru componentul tisular a tumorii ovariene. *Imagistica prin rezonanță magnetică (IRM)* a fost efectuată cu aparatul Optima MR 360 1.5T (General Electric, USA).

*Metodele morfologice:* Material pentru explorările morfologice au servit probele tisulare prelevate din piesele anatomo-chirurgicale. Prealabil probele sau fixat în sol. Formol de 10% timp de 6-12 ore, ulterior fiind procesate conform protocolului standard de histomorfologie utilizând histoprosesorul cu vacuum TISPE® ultra (DiaPath, Italia) și rețeaua de colorație automatizată Raffaello® (DiaPath, Italia) a testelor histomorfologice bazate pe secțiuni cu grosimea de 3-4μ efectuate la microtom „SLEE MANIS-CUT 6062”. La etapa de colorație sau utilizat metoda clasică *hematoxilină-eozină* (H&E). Examinarea histologică sa efectuat utilizarea microscopelor: Nikon Labophot-2 și Carl Zeiss la *ocularul*  $\times 10$  și *obiectivele*  $\times 2,5$ ;  $\times 10$ ;  $\times 20$ ;  $\times 40$ . Imaginile – Canon PowerShot A1000IS, captate în format – JPEG.

*Prelucrarea statistică* a valorilor cantitative a fost efectuată prin metoda analizei variaționale. S-a calculat media aritmetică (M), eroarea mediei aritmetice (m) și intervalul de încredere (95% CI). Pentru compararea valorilor relative a fost utilizat testul – Fisher’s exact test.

**Rezultate.** Vârsta medie a pacientelor în acest grup a constituit  $45.7 \pm 2.9$  ani (95% CI:39.77–51.62) iar repartizarea lor în intervalele de vârstă sunt prezentate în tabelul 1. Trebuie de menționat că pacientele cu vârstă <40 ani au fost înregistrate statistic veridic mai rar ( $p < 0.05$ ), de cât cele >40 ani și corelarea acestor grupuri de vârstă a constituit respectiv 30.4% vs. 69.6%. Din numărul total de cazuri, în 11 cazuri (47.8%) – au figurat paciente în perioada de menopauză și postmenopauză.

**Tabelul 1.** Repartizarea pacientelor cu TOS după intervalul de vârstă

Intervale de vârstă (ani)	<20 (I)	21-30 (II)	31-40 (III)	41-50 (IV)	51-60 (V)	>60 (VI)	Total
Numărul de paciente n (%)	1 (4.4%)	3 (13.04%)	3 (13.04%)	7 (30.4%)	6 (26.08%)	3 (13.04%)	23 (100%)

I+II+III vs. IV+V+VI ( $p=0.0174$ )

Manifestările clinice principale în TOS au inclus: dureri pelvine - 13(56.5%), discomfort în regiunea suprapubiană - 5(21.7%), metroragii - 3(13.1%) și dizurie - 2(8.7%). Durata medie a simptomelor în caz de TOS a constituit  $11.2 \pm 1.8$  luni (95% CI:7.47–14.96).

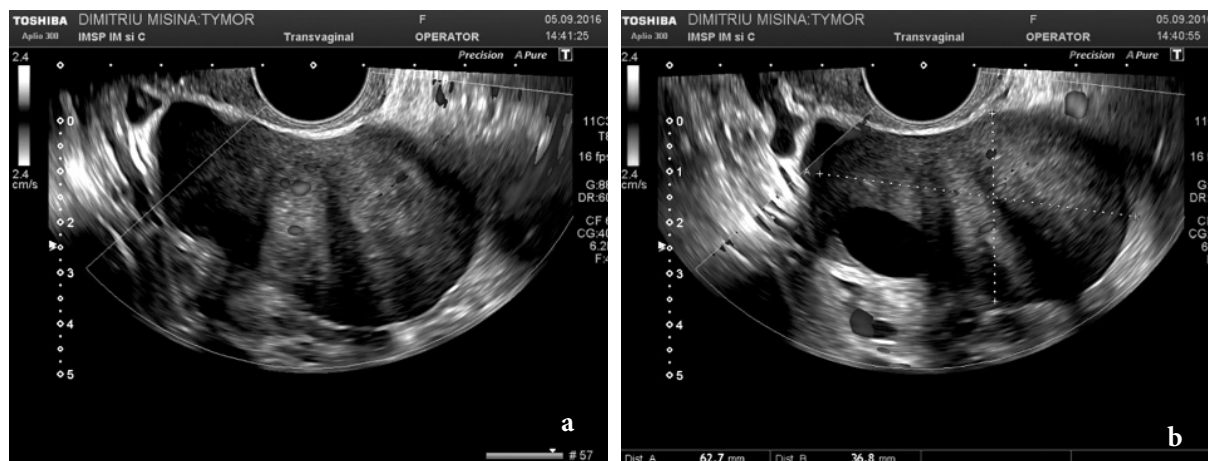
La efectuarea velocimetriei Doppler (**Fig.1 a,b**): în majoritatea cazurilor TOS se vizualizau ca formațiuni solide

Echo-Doppler obținute corespund rezultatelor studiilor analogice, publicate anterior în literatură de specialitate [2, 4, 9, 13, 18].

TOS unilaterale au fost mai frecvent întâlnite de cât cele bilaterale și acest raport a fost de 91.3% (21/23) vs. 8.7% (2/23), ceea ce este în concordanță cu datele literaturii de specialitate [2, 3, 5, 6, 9, 10, 13, 15, 18]. În cazul TOS unilaterale aceste formațiuni au fost localizate la fel de des cât din stânga ( $n=10$ ) atât și din dreapta ( $n=11$ ).

La investigarea cu TC ( $n=1$ ): formațiune solidă, sferică, bine definită, dimensiunile -  $65 \times 82 \times 90$ mm, valori densitometrice 30-34UH. Limfadenopatie lipsește. În faza arterială se evidențiază acumulare moderată a substanței de contrast până la 40-45UH.

După datele IRM ( $n=2$ ): tumorile se vizualizau ca formațiuni ovale sau ovoidale cu contur clar, regulat cu o inten-



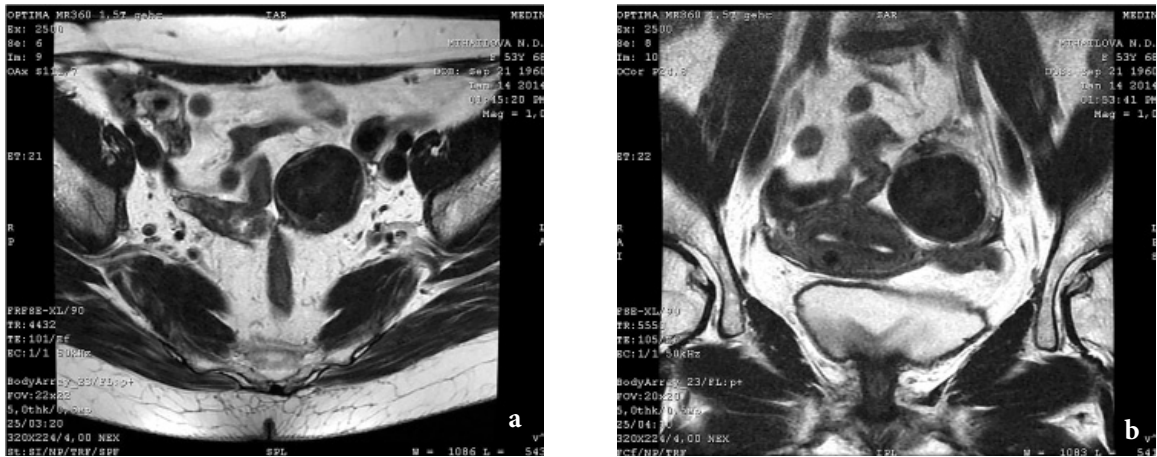
**Fig. 1.** USG Doppler endovaginal (a, b): formațiune solidă, hipogenă a ovarului drept (62.7x36.8 mm) cu contur clar și vascularizare minimă.

( $n=17$ , 73.7%) de formă ovală ( $n=14$ , 60.9%) sau ovoidală ( $n=4$ , 17.4%) cu contur clar și regulat. Media dimensiunilor maxime a tumorilor a fost de  $7.9 \pm 0.6$  cm (de la 4.5 până la 15.3), iar celor minime -  $7.8 \pm 1.4$  cm (de la 2.8 până la 14.7). Volumul mediu a formațiunilor tumorale a constituit  $291.6 \pm 85.4$  cm<sup>3</sup> (95% CI:114.4-468.9).

În cadrul aprecierii ecogenității tumorilor a fost stabilită prevalența formațiunilor hipoecogene ( $n=20$ , 86.9%) și extrem de rar se depistau formațiuni de ecogenitate mixtă ( $n=2$ ) sau anecogene ( $n=1$ ). La evaluarea cartografiei velocimetriei Doppler, au fost stabilite următoarele caracteristici: lipsa semnalului ( $n = 17$ , 73,9%), fluxul sanguin minim ( $n = 4$ , 17,5%), semnal moderat ( $n = 1$ , 4,3%) și pronunțat ( $n = 1$ , 4,3%). Datele caracteristicilor

sitate hipointensivă în T1W și T2W (**Fig.2**). După datele examenului radiologic în 5(21.7%) cazuri a fost constatată prezența lichidului liber în cavitatea abdominală și la revizia intraoperatorie s-a confirmat prezența lichidului ascitic transparent în volum mediu de  $221.3 \pm 24.1$  ml (95% CI:144.8-297.7). Frecvența prezenței ascitei în limitele acestui studiu sunt pe deplin comparabile cu datele din literatură anglo-saxonă [2, 3, 5, 6, 8–10, 13, 15, 18].

În majoritatea cazurilor în calitate de abord chirurgical a fost utilizată incizia transversal după Phannenstiel ( $n=21$ ) și doar în două cazuri incizia mediană. Volumul intervenției chirurgicale în cazul TOS a inclus: histerectomie subtotal+anexectomie bilaterală ( $n=8$ , 34.8%), histerectomie subtotal+anexectomie unilaterală ( $n=2$ ,



**Fig. 2.** IRM (a) secțiune axială și (b) frontală: în proiecția ovarului stâng se vizualizează o formațiune ovală (\*) cu contur clar și uniform (4.5x4.3x3.9 cm)

8.7%), anexectomie unilaterală (n=1,4.3%), anexectomie bilaterală (n=7, 30.5%), tumorectomie bilaterală (n=1, 4.3%) și tumorectomie (n=4, 17.4%). Macroscopic TOS prezintă formațiuni solide (Fig. 3) de culoare albicioasă sau gălbue în secțiune (Fig. 4).

Perioada postoperatorie a decurs în toate cazurile fără particularități, durata medie de aflare în staționar a fost de 6.5±0.2 zile (de la 5 până la 7). Durata supravegherii după aceste paciente a fost de 66.1±7.7 luni (95% CI:50.03-81.97), toate fiind asimptomatice, recidivarea tumorii nu s-a depistat.



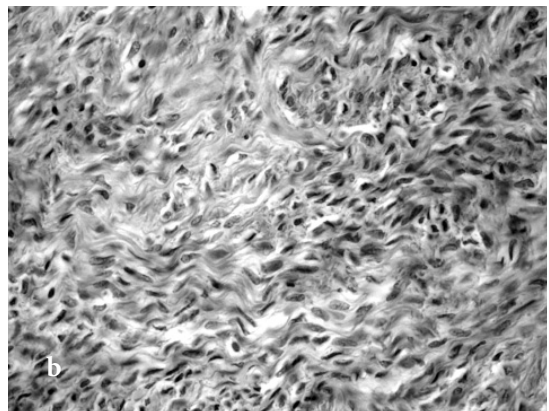
**Fig. 3.** Fibrom ovarian pe stânga (aspect intraoperator)



**Fig. 4.** Secțiunea macropreparatului fibromului ovarian înlăturat

La examenul histologic (n=25) au fost stabilite următoarele forme morfologice a tumorilor ovariene stromale: tecom ovarian - 12(48%), fibrom - 8(32%) și fibrotecom - 5(20%) (Fig. 5 a, b).

**Discuții.** TOS prezintă formațiuni solide, cu creștere lentă, de origine benignă ce se caracterizează prin creșterea stromei ovariene [1]. Aceste tumori pot apărea în diferite vârsta, dar cel mai frecvent se manifestă la paciențele în



**Fig. 5.** Examen microscopic: fibrotecom ovarian (colorație H&E) mărire x100 (a) și mărire x400 (b)

perioada menopauzei și postmenopauzei și frecvența lor în diferite studii variază de la 48.9% до 92% [2, 6, 8, 9, 10, 15, 18].

De regulă, TOS de dimensiuni mici sunt asimptomatice și se depistează incidental la examenul ultrasonografic de rutină și acest scenariu se întâlnește în datele publicate de la 13% până la 66% [2, 3, 7-9, 13, 18]. Printre manifestările clinice sunt prezentate: dureri pelvine (18.6-39.1%), mărirea volumului abdomenului (21.7-27.9%), metroragii (2.1-26.9%), formațiuni palpabile (6-36%) și dizurie (1-2.1%) [2, 3, 6-9, 13, 15]. În literatura de specialitate patogeneza hemoragiilor uterine se lămurește prin hiperestrogenemie ca rezultat a secreției substanțelor de celulele teca, situate în stratul medular al ovarului și care se referă la clasa endocrinelor [8]. Acest fenomen lămurește apariția hiperplaziei endometrului la pacientele postmenopauzale, la care după datele metodelor imagistice, acest fenomen se depistează în 28-46.2% cazuri [6, 8]. După datele Genç M. și coaut. (2015) studiul preoperator a endometrului la acest grup de paciente este necesar datorită riscului sporit de dezvoltare a stărilor precanceroase [13]. În marea majoritate a cazurilor, TOS sunt unilaterale și doar la unele paciente se depistează localizare bilaterală, frecvența variind de la 2.1% până la 21.7% [2, 3, 5, 6, 9, 10, 13, 15, 18]. Ca urmare a dimensiunilor mici a TOS acestea pot fi o perioadă îndelungată asimptomatice [14, 19-21], atingând și mărimi gigante. În studiile anterioare s-a remarcat faptul că dimensiunile medii a TOS au constituit 8.8 cm și au variat de la 2 la 18 cm [4]. În raportul lui Antunes M. și coaut. (2019) a fost prezentat un caz documentat de fibrom ovarian cu dimensiuni de 27x30x20 cm și greutatea de 10 kg [22], iar cu doi ani mai devreme a fost descris un caz de fibrotecom cu diametrul de 50 cm și masa de 20 kg [23]. În studiul efectuat de Chung BM. și coaut. (2015) a fost stabilit că tumorile de dimensiuni >6 cm la examenul morfologic se refereau la tecomă sau fibrotecome [17].

Printre complicațiile TOS sunt descrise: torsiunile anexelor uterine [6, 13, 15, 20], rupturi spontane cu hemoperitoneum [14, 19]. În acest aspect trebuie considerată destul de interesantă lucrarea lui Yazawa H. și coaut. (2019), care a prezentat primul caz de fibrom parazitar (extragonadal) ca rezultat al autoamputării ovarului stâng (torsiune cronică al anexelor uterine), situat pe suprafața sigmei [24].

Una dintre particularitățile TOS este asocierea lor cu acumularea lichidului liber în cavitatea abdominală (ascita), frecvența căreia atinge 11.3%-58.3% cazuri și pozitiv corelează cu dimensiunile tumorii [2, 3, 5, 6, 8-10, 13, 15, 18]. Așa, în studiul efectuat de Genç M. și coaut. (2015) în cazul prezenței ascitei, dimensiunile tumorii au constituit în mediu 11.8 cm și au variat de la 8 până la 17 cm [13]. Intraoperator volumul lichidului ascitic a fost estimat de la 50 până la 3500 ml [6, 9, 10, 15].

Una dintre cele mai grave dar destul de rar întâlnite complicații a TOS este sindromul Meigs (ascită+hidrotorax) care regresează totalmente după înlăturarea tumorii [22,

25]. Sindromul Meigs este descris în calitate de caz clinic separat [20, 22, 25], iar în seriile de paciente cu TOS frecvența acestuia a constituit de la 1 până la 11.1% [2, 5, 6, 9, 10]. Fiziopatologia sindromului Meigs nu este cunoscută pe deplin până în prezent, totodată există un consens privind mecanismul apariției ascitei și hidrotoracelui: (1) filtrația lichidului interstițial prin capsula tumorii ca rezultat al disbalanței circulației sangvine și dimensiunilor mari a tumorii; (2) transportarea lichidului ascitic în cavitatea pleurală prin trapele naturale din diafragmă; (3) acumularea lichidului este condiționată de anumite substanțe (așa ca factorul de creștere a endoteliului vaselor - VEGF) - cea ce duce la creșterea semnificativă a permeabilității vaselor [22].

Într-un șir de studii a fost menționată creșterea markerului oncologic CA-125 în cadrul TOS [4, 5, 10, 15, 20, 25, 26]. Creșterea markerului oncologic CA-125 a fost constatată într-o serie de paciente cu TOS de la 20.7% până la 38.5% cazuri, iar în unele cazuri s-a observat că nivelul acestui marker a fost în dependență directă cu dimensiunile tumorii și volumul lichidului ascitic [2, 3, 6, 9, 10, 15, 26], iar în alte lucrări așa regularitate nu s-a determinat [4, 13]. În acest context un interes deosebit prezintă publicația lui Shen Y. și coaut. (2018), în care, în baza examenului imunohistochimic s-a demonstrat că în celulele TOS nu este expresia CA-125 iar ca concluzie autorii au constatat, că acest fenomen este cauzat de dimensiunile mari a tumorii și ascita asociată [10].

Chen H. și coaut. (2016) au studiat în mod special caracteristicile ultrasonografice a 61 paciente cu TOS și au stabilit că acestea se vizualizează ca formațiuni solide (forma - rotundă, ovală sau lobulară), hipocogene cu contur clar (la dimensiunile tumorii <5 cm), iar în cazul tumorilor de dimensiuni mari care depășesc aceste mărimi - se depistează ca formațiuni ecogene, cu prezența porțiunilor de hemoragii, calcificărilor și degenerației chistice. La examenul Doppler - în 80% cazuri se înregistra un semnal slab sau moderat a fluxului sangvin [9]. Trebuie de menționat, că date similare au fost obținute și în alte studii analogice [2, 4, 13, 18].

După datele Zhang Z. și coaut. (2015), caracteristicile principale tomografice a TOS sunt: (1) mai frecvent unilaterale, formațiuni solide rotunde sau ovale cu contur clar; (2) lipsa sau acumulare slabă a contrastului; și (3) sunt însoțite de o cantitate neînsemnată de lichid ascitic. Autorii au menționat faptul că TOS de dimensiuni mici de regulă sunt de o densitate omogenă iar cele de dimensiuni mari - heterogene cu o densitate scăzută în zonele transformărilor chistice a tumorii [5]. În același timp, în studiul efectuat de Chen J. și coaut. (2017) la 25 paciente cu TOS cărora li s-a efectuat TC s-a observat că în caz când diametrul mediu a formațiunilor era de  $9.8 \pm 5.3$  cm în 64% cazuri se determinau tumori solide sau preponderant solide iar în 36% - chistice sau preponderant chistice cu densitatea nativă de  $44.2 \pm 12.8$  H.U. (de la 31 până la 79 H.U.). Autorii au evidențiat o corelație pozitivă

dintre dimensiunile tumorii și apariția degenerației chistice a TOS. Mai mult decât atât, acumularea contrastului în țesutul tumoral a fost observată în mediu în 73,7% [8]. După datele IRM, aceste tumori se vizualizează ca formațiuni izointense sau hipointense la T1W și slab hipointense sau izointense la T2W comparative cu miometru cu sau fără focare de hiperintensitate [2, 4, 6, 8, 13, 17]. Totodată, s-a stabilit dependența caracteristicilor radiologice de dimensiunile tumorii. Așa dar, pentru TOS > 6 cm este caracteristic: (1) prezența capsulei tumorii; (2) schimbări degenerative; (3) formațiuni chistice periferice subcapsulare; (4) heterogenitate în T2W; și (5) acumularea heterogenă a contrastului. Trebuie de menționat că în cazul tumorilor de dimensiuni mari se întâlnesc de regulă minim patru caracteristici imagistice [16]. Analizând subcategoriile TOS, s-a fost stabilit că fibrotecomele și tecomele cu dimensiunile mai mari de 6 cm se întâlnesc mai des de cât fibromele [17].

Rezumând datele studiilor preoperatorii, trebuie de menționat că diagnosticul exact al TOS este de circa 50% din cazuri [2, 3, 7, 18]. Cauzele principale ce influențează la diagnosticul greșit al TOS în favoarea tumorilor ovariene epiteliale sunt: (1) raritatea acestor tumori; (2) numărul înalt a pacientelor postmenopauzale; (3) asocierea tumorilor cu ridicarea cifrelor markerului oncologic CA-125; (4) componentul chistic în cazul TOS de dimensiuni mari; și (5) prezența ascitei sau a ascitei în combinație cu hidrotorax [10].

Intervențiile chirurgicale în cazul TOS se efectuau atât prin abord classic (laparotomie) [2, 3, 7, 13, 18, 19, 22, 23], cât și cu utilizarea tehnologiilor laparoscopice [3, 7, 11, 15, 18, 20, 24]. To J. și Li CL. (2019) au descris folosirea combinată a laparoscopiei și minilaparotomiei în cazul înlăturării fibromului ovarian gigant (19x14x12 cm), iar ultimul abord a fost de ≈ 3cm și a fost utilizat pentru marcelarea tumorii și extracția din cavitatea abdominală [14].

În cazul aprecierii volumului intervenției chirurgicale în grupul pacientelor cu TOS este utilizat principiul unanim acceptat – efectuarea operațiilor organamenajante (tumorectomii) la pacientele de vârstă fertilă și intervenții radicale (histerectomii totale sau subtotale cu anexe, salpingoovarectomii uni- sau bilaterale) în grupul pacientelor peri- și postmenopauzale [6, 12, 13, 15, 21]. În unul dintre cele mai mari serii de paciente cu TOS (n=97) tumorectomia a fost efectuată în 43.5% cazuri, iar în 90% – cu utilizarea tehnologiilor laparoscopice [3]. În studiul efectuat de Slimani O. și coaut. (2017) tumorectomia a fost efectuată în toate cazurile prin abord laparoscopic [18].

Cho YJ. și coaut. (2015) au publicat date despre 50 de paciente de vârstă fertilă, cărora li s-au efectuat operații ovaramenajante și pe parcursul a patru ani postoperator recidiva a fost observată în 2% cazuri. În baza datelor obținute a fost formulată decizia referitor la oportunitatea efectuării operațiilor organamenajante la pacientele de vârstă fertilă cu TOS [7].

Macroscopic TOS prezintă formațiuni solide de culoare albicioasă sau galben albicios cu o suprafață netedă [9, 15]. Microscopic TOS include patru subcategorii morfologice: fibrom, fibrom celular, tecom și fibrotecom [1]. Fibromul ovarian este tumoare reprezentată din celule fibroblaste fuziforme. Fibrotecomele sunt formațiuni ce conțin celule teacă cu conținut lipid (tecom) în combinație cu celulele caracteristice pentru fibromul ovarian. Fibromul celular este o specie rară a TOS ce se caracterizează prin prezența celulelor cu nuclee compact împachetate, cu lipsa sau prezența minimă a atipiei nucleelor și 1-3 mitoze/10 HPF. În cadrul studiului efectuat de Singh V. și coaut. (2019) este descris un caz foarte rar de fibrom ovarian bilateral în combinație cu tumoare ovariană epitelială (cistadenom) [21].

În baza studiilor imunohistochimice s-au stabilit trăsăturile caracteristice a TOS: expresie pozitivă la Vimentin (+) și negativă la CK, inhinbin-a, S-100, SMA, Desmin, CD68. Activitatea mitotică a constituit după Ki67 <10% [5, 6, 21, 27].

În cazuri destul de rare (<2%) se întâlnesc tumori ovariene stromale maligne – fibrosarcome [2, 9]. Caracteristicile morfologice a fibrosarcomelor sunt atipii nucleare severe în combinație cu ≥4 mitoze/10 HPF.

Conform majorității cercetătorilor, prognosticul în cazul TOS se consideră favorabil cu lipsa recidivelor tumorii în perioada postoperatorie tardivă [3, 9, 10]. a Cu toate acestea Obeidat RA. și coaut. (2019) a prezentat o observație bazată pe dovezi a cursului malign al fibrotecomului ovarian la o pacientă în vârstă de 42 de ani, după salpingo-ovarectomie unilaterală, cu dezvoltarea a trei episoade de recidivă intra-abdominală a neoplasmelor în următorii patru ani, necesitând intervenții chirurgicale repetate [27].

În concluzie trebuie de menționat că TOS mai frecvent se întâlnesc la pacientele peri- și menopauzale. Destul de des sunt diagnosticate ca fibrome uterine sau tumori ovariene maligne. Efectuarea tumorectomiei în cazul TOS este metoda de elecție la pacientele de vârstă reproductivă.

#### Bibliografie

1. Hanley KZ, Mosunjac MB. Practical review of ovarian sex cord-stromal tumors. *Surg Pathol Clin.* 2019;12(2):587-620.
2. Numanoglu C, Kuru O, Sakinci M, Akbayır O, Ulker V. Ovarian fibroma/fibrothecoma: retrospective cohort study shows limited value of risk of malignancy index score. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2013;53(3):287-92.
3. Cho YJ, Lee HS, Kim JM, Joo KY, Kim ML. Clinical characteristics and surgical management options for ovarian fibroma/fibrothecoma: a study of 97 cases. *Gynecol Obstet Invest.* 2013;76(3):182-7.
4. Yen P, Khong K, Lamba R, Corwin MT, Gerscovich EO. Ovarian fibromas and fibrothecomas: sonographic correlation with computed tomography

- and magnetic resonance imaging: a 5-year single-institution experience. *J Ultrasound Med.* 2013;32(1):13-8.
5. Zhang Z, Wu Y, Gao J. CT diagnosis in the thecoma-fibroma group of the ovarian stromal tumors. *Cell Biochem Biophys.* 2015;71(2):937-43.
  6. Wu B, Peng WJ, Gu YJ, Cheng YF, Mao J. MRI diagnosis of ovarian fibrothecomas: tumour appearances and oestrogenic effect features. *Br J Radiol.* 2014;87(1038):20130634.
  7. Cho YJ, Lee HS, Kim JM, Lee SY, Song T, Seong SJ, Kim ML. Ovarian-sparing local mass excision for ovarian fibroma/fibrothecoma in premenopausal women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2015;185:78-82.
  8. Chen J, Wang J, Chen X, Wang Y, Wang Z, Li D. Computed tomography and magnetic resonance imaging features of ovarian fibrothecoma. *Oncol Lett.* 2017;14(1):1172-1178.
  9. Chen H, Liu Y, Shen LF, Jiang MJ, Yang ZF, Fang GP. Ovarian thecoma-fibroma groups: clinical and sonographic features with pathological comparison. *J Ovarian Res.* 2016;9(1):81.
  10. Shen Y, Liang Y, Cheng X, Lu W, Xie X, Wan X. Ovarian fibroma/fibrothecoma with elevated serum CA 125 level: A cohort of 66 cases. *Medicine (Baltimore).* 2018;97(34):e11926.
  11. Chung KC, Lee HH, Su MH, Chang WH, Lai WA, Wang PH. Ovarian fibrothecoma mimicking ovarian cancer: Using laparoscopy to avoid unnecessary exploratory laparotomy. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2019;58(6):903-904.
  12. Abdelazim IA, Abu-Faza M, Abdelrazek K, Amer OO, Shikanova S, Zhurabekova G. Ovarian fibroma commonly misdiagnosed as uterine leiomyoma. *Gynecol Minim Invasive Ther.* 2019;9(1):36-38.
  13. Genç M, Solak A, Genç B, Sivrikoz ON, Kurtulmuş S, Turan A, Sahin N, Gür EB. A diagnostic dilemma for solid ovarian masses: the clinical and radiological aspects with differential diagnosis of 23 cases. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2015;36(2):186-91.
  14. To J, Li CL. Spontaneous abdominal bleeding from an infundibulopelvic ligament tear in a patient with large ovarian fibroma. *Case Rep Obstet Gynecol.* 2019;2019:9834915.
  15. Son CE, Choi JS, Lee JH, Jeon SW, Hong JH, Bae JW. Laparoscopic surgical management and clinical characteristics of ovarian fibromas. *JSLs.* 2011;15(1):16-20.
  16. Shinagare AB, Meylaerts LJ, Laury AR, Mortele KJ. MRI features of ovarian fibroma and fibrothecoma with histopathologic correlation. *AJR Am J Roentgenol.* 2012;198(3):W296-303.
  17. Chung BM, Park SB, Lee JB, Park HJ, Kim YS, Oh YJ. Magnetic resonance imaging features of ovarian fibroma, fibrothecoma, and thecoma. *Abdom Imaging.* 2015;40(5):1263-72.
  18. Slimani O, Ben Temim R, Ajroudi M, Makhlof T, Mathlouthi N, Attia L. Contribution of ultrasound in the study of ovarian fibrothecomas: a series of 47 cases. *Tunis Med.* 2017;95(1):29-36.
  19. Köse M, Çelik F, Kayman Köse S, Ariöz DT, Yavas BD. Very rare cause of hemoperitoneum: Ovarian fibroma. *J Obstet Gynaecol.* 2017;37(1):125-126.
  20. Macciò A, Madeddu C, Kotsonis P, Pietrangeli M, Paoletti AM. Large twisted ovarian fibroma associated with Meigs' syndrome, abdominal pain and severe anemia treated by laparoscopic surgery. *BMC Surg.* 2014;14:38.
  21. Singh V, Kaur N, Mandal S, Khurana N, Bhasin S. Bilateral ovarian fibromas with concomitant unilateral serous cystadenoma: a rare case with review of literature. *J Obstet Gynaecol.* 2019;39(7):1027-1029.
  22. Antunes M, Pizzol D, Zambon M, Colangelo AC. Giant ovarian fibroma with associated Meigs syndrome in low resources setting. *J Surg Case Rep.* 2019;2019(4):rjz143.
  23. Markowska J, Madry R, Kasprzak B, Jaszczyńska-Nowinka K, Gryczka R, Marszałek A. A case of a 20-kg fibrothecoma. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2017;44(2):275-276.
  24. Yazawa H, Takiguchi K, Kato A, Imaizumi K. An unusual presentation of ovarian fibroma originating from an autoamputated ovary. *Gynecol Minim Invasive Ther.* 2019;8(1):40-43.
  25. Cha MY, Roh HJ, You SK, Lee SH, Cho HJ, Kwon YS. Meigs' syndrome with elevated serum CA 125 level in a case of ovarian fibrothecoma. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2014;35(6):734-7.
  26. Chan WY, Chang CY, Yuan CC, Chen PH. Correlation of ovarian fibroma with elevated serum CA-125. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2014;53(1):95-6.
  27. Obeidat RA, Aleshawi AJ, Obeidat HA, Al Bashir SM. A rare presentation of ovarian fibrothecoma in a middle age female: case report. *Int J Womens Health.* 2019 28;11:149-152.





24+4  
**DIMIA**<sup>®</sup>

0,02 mg etinilestradiol, 3 mg drospirenon

**Scade fluctuațiile  
hormonale\***

## Combinăția optimă pentru contracepția planică la femeile tinere

- 0,02 mg etinilestradiol
- 3 mg drospirenon
- Regim 24+4

**DENUMIREA COMERCIALĂ A MEDICAMENTULUI:** Dimia 3 mg/0,02 mg comprimate filmate. **COMPOZIȚIA CALITATIVĂ ȘI CANTITATIVĂ:** Fiecare comprimat filmat conține etinilestradiol 0,02 mg și drospirenonă 3 mg. **4 comprimate filmate placebo (inactive) verzi:** **FORMA FARMACEUTICĂ:** Comprimate filmate. **Indicații terapeutice:** Contracepție orală. **Doze și mod de administrare:** Administrare orală. Comprimatele trebuie luate zilnic, aproximativ la aceeași oră, cu puțin lichid dacă este necesar, în ordinea indicată pe blister. Utilizarea comprimatelor este continuă. Se ia câte un comprimat pe zi, 28 de zile consecutiv. Fiecare cutie ulterioară se va începe în prima zi după administrarea ultimului comprimat din cutia anterioară. Sângerarea de întrerupere începe, de regulă, după a 2-a sau a 3-a zi de la începerea administrării comprimatelor verzi placebo (ultimul rând de comprimate) și este posibil să nu se oprească înaintea începerii următoarei cutii. **Contraindicații:** Contraceptivele hormonale combinate (CHC) nu trebuie utilizate dacă există una dintre afecțiunile sau situațiile de mai jos. Dacă vreuna dintre afecțiunile de mai jos apare pentru prima dată în timpul administrării CHC, administrarea acestora trebuie oprită imediat. **Hipersensibilitate la substanțele active sau la oricare dintre excipienți.** **Hipersensibilitate la arahide sau soia.** Prezența sau riscul de tromboembolism venos (TEV). Prezența sau riscul de tromboembolism arterial (TEA). Prezența sau antecedente de afecțiuni hepatice severe atât timp cât funcția hepatică nu a revenit la normal. Insuficiența renală severă sau acută. Prezența sau antecedente de tumori hepatice (benigne sau maligne). Existența sau suspectarea malignității dependente de hormonii sexuali (de exemplu la nivelul organelor genitale sau sânilor). Sângerări vaginale de etiologie necunoscută. **Atenționări și precauții speciale pentru utilizare:** **Riscul de tromboembolism venos (TEV):** **Riscul de tromboembolism arterial (TEA):** Studiile epidemiologice au evidențiat, de asemenea, asocierea utilizării CHC cu un risc crescut de tromboembolism arterial (infarct miocardic) sau accident cerebrovascular (de exemplu, atac ischemic tranzitor, accident vascular cerebral). Evenimentele tromboembolice arteriale pot fi letale. **Tumori:** În unele studii epidemiologice s-a raportat un risc crescut de neoplasm de col uterin la femeile care utilizează o perioadă lungă de timp COC (>5 ani), dar încă există controverse privind măsura în care acest risc poate fi influențat de către comportamentul sexual și de alți factori cum ar fi virusul papiloma uman (HPV). **Alte afecțiuni:** Femeile cu hipertrigliceridemie sau antecedente heredoaterale de hipertrigliceridemie pot prezenta un risc crescut de apariție a pancreatitei în cazul utilizării COC. A fost raportată apariția sau agravarea următoarelor afecțiuni atât în timpul sarcinii cât și al utilizării COC, dar dovezile asocierii cu utilizarea COC nu sunt concludente: icter și/sau prurit colestatic; litiază biliară; porfirie; lupus eritematos sistemic; sindrom hemolitic uremic; coree Sydenham; herpes gestațional; pierderea auzului legată de otoscleroză. La femeile cu angioedem

ereditar, estrogenii exogeni pot induce sau agrava simptomele angioedemului. Tulburările acute sau cronice ale funcției hepatice pot necesita întreruperea utilizării COC până când markerii funcției hepatice revin la normal. Reapariția icterului colestatic și/sau a pruritului determinat de coleastăză, apărute anterior în timpul sarcinii sau al utilizării anterioare de steroizi sexuali necesită întreruperea COC. Agravarea depresiei endogene sau epilepsiei, a bolii Crohn și a colitei ulcerose au fost raportate în cursul administrării de COC. Femeile predispuse la doasmă trebuie să evite expunerea la soare sau la radiații ultraviolete în timpul utilizării COC. Comprimatele filmate active conțin lactoză monohidrat 48,53 mg iar cele inactive conțin lactoză anhidră 37,26 mg per comprimat filmat. Paciente cu afecțiuni ereditare rare de intoleranță la galactoză, deficitul de lactază (Lapp) sau sindrom de malabsorbție la glucoză-galactoză, care urmează o dietă fără lactoză trebuie să ia în considerare această cantitate. Comprimatele filmate placebo conține agentul de colorare „galben amurg” care poate cauza reacții alergice. Acest medicament conține lecitină din soia 0,07 mg per comprimat. Pacientele cu hipersensibilitate la arahide sau soia nu trebuie să utilizeze acest medicament. **Reacții adverse:** S-a observat un risc crescut de evenimente trombotice și tromboembolice arteriale și venoase, inclusiv infarct miocardic, accident vascular cerebral, atacuri ischemice tranzitorii, tromboză venoasă și embolie pulmonară la femeile care utilizează CHC. La utilizatoarele de COC au fost raportate următoarele evenimente adverse grave: afecțiuni tromboembolice venoase; afecțiuni tromboembolice arteriale; hipertensiune arterială; tumori hepatice; apariția sau agravarea unor afecțiuni pentru care nu este concludentă legătura cu administrarea de COC: boală Crohn, colită ulcerativă, epilepsie, miom uterin, porfirie, lupus eritematos sistemic, herpes gestațional, coree Sydenham, sindrom hemolitic uremic, icter colestatic; doasmă; tulburări acute sau cronice ale funcțiilor hepatice ce pot necesita întreruperea utilizării COC până când parametrii funcțiilor hepatice revin la valori normale; la femeile cu angioedem ereditar, estrogenii exogeni pot induce sau agrava simptomele angioedemului. **NUMĂRUL CERTIFICATULUI DE ÎNREGISTRARE:** 23703. **DATA AUTORIZĂRII:** 13.07.2017. **DATA REVIZIURII TEXTULUI:** Iulie 2017. **Statutul legal:** Cu prescripție medicală.

„Acest material publicitar este destinat persoanelor calificate să prescrie, să distribuie și/sau să elibereze medicamente”. Informații detaliate privind acest medicament sunt disponibile pe site-ul Agenției <http://nomenclator.amed.md/>

\* Dimia<sup>®</sup> RCP

# Midiana®

3 mg drospirenon + 0,03 mg etinilestradiol

contraceptiv microdozat oral combinat  
cu drospirenon



Planifică  
imprevizibilul

**DENUMIREA COMERCIALĂ A MEDICAMENTULUI :** Midiana 3 mg/0,03 mg comprimate filmate. **COMPOZIȚIA CALITATIVĂ ȘI CANTITATIVĂ:** Fiecare comprimat conține drospirenonă 3 mg și etinilestradiol 0,03 mg. Excipienți cu efect cunoscut: lactoză monohidrat 48,17 mg și lecitină de soia 0,070 mg. **FORMA FARMACEUTICĂ:** Comprimate filmate. **Indicații terapeutice:** Contracepție orală. **Doze și mod de administrare:** Comprimatele trebuie administrate în fiecare zi, la aproximativ aceeași oră, cu puțin lichid, în ordinea indicată pe blister. Se administrează câte un comprimat zilnic, timp de 21 zile consecutiv. Administrarea fiecărui blister ulterior se începe după un interval de 7 zile libere, interval în care, de regulă, apare sângerarea de întrerupere. De obicei, aceasta începe în a doua sau a treia zi de la administrarea ultimului comprimat și este posibil să nu se oprească înainte de începerea următorului blister. **Calea de administrare:** Utilizare orală. **Contraindicații:** Contraceptivele hormonale combinate (CHC) nu trebuie utilizate în următoarele condiții: Hipersensibilitate la substanțele active sau la oricare dintre excipienții acestuia. Hipersensibilitate la arahide sau soia. Prezența sau riscul de tromboembolism venos (TEV). Afecțiuni hepatice severe prezente sau în antecedente, atât timp cât funcția hepatică nu a revenit în limita valorilor normale. Insuficiență renală severă sau insuficiență renală acută. Tumori hepatice (benigne sau maligne) prezente sau în antecedente. Tumori maligne dependente de hormonii sexuali cunoscuți sau suspectați (de exemplu la nivelul aparatului genital sau sânilor). Sângerări vaginale de etiologie necunoscută. **Atenționări și precauții speciale:** **Atenționări:** **Tulburări circulatorii: Riscul de tromboembolism venos (TEV).** Extrem de rar s-a raportat apariția trombozei la nivelul altor vase de sânge, de exemplu venele și arterele hepatice, mezenterice, renale sau retiniene, la utilizatoarele de CHC. **Riscul de tromboembolism arterial (TEA):** Studiile epidemiologice au evidențiat, de asemenea, asocierea utilizării CHC cu un risc crescut de tromboembolism arterial (infarct miocardic) sau accident cerebrovascular (de exemplu, atac ischemic tranzitor, accident vascular cerebral). Evenimentele tromboembolice arteriale pot fi letale. **Tumori:** Cel mai important factor de risc pentru cancerul de col uterin este prezența virusului papiloma uman (HPV). În unele studii epidemiologice s-a raportat un risc crescut de neoplasm de col uterin la femeile care utilizează o perioadă îndelungată COC (> 5 ani), dar persistă o controversă în ceea ce privește gradul în care această constatare este atribuibilă efectelor de confuzie ale comportamentului sexual și altor factori. **Alte afecțiuni:** Femeile cu hipertrigliceridemie sau antecedente hereditare de hipertrigliceridemie pot prezenta un risc crescut de pancreatită în cazul în care utilizează COC. Următoarele afecțiuni au fost raportate că pot să apară sau se pot agrava atât

o dată cu sarcina, cât și cu utilizarea COC, dar dovada unei asocieri cu utilizarea COC este neconcludentă: icter și/sau prurit asociate cu colestază, litiază biliară, porfirie, lupus eritematos sistemic, sindrom hemolitic uremic, coree Sydenham, herpes gestațional, pierdere a auzului legată de otoscleroză. La femeile cu angioedem ereditar, estrogenii exogeni pot induce sau exacerba simptomele angioedemului. Tulburările acute sau cronice ale funcției hepatice pot necesita întreruperea utilizării COC, până când testele funcției hepatice revin la valorile normale. Recurența icterului colestatic și/sau pruritului asociat cu colestază, care au apărut anterior în timpul sarcinii sau utilizării anterioare a steroizilor sexuali, necesită întreruperea COC. În timpul utilizării COC au fost raportate agravarea depresiei, epilepsiei, bolii Crohn și colitei ulcerose. Ocazional, poate să apară cloasmă, mai ales la femeile cu antecedente de cloasmă gravidică. Femeile cu predispoziție la cloasmă trebuie să evite expunerea la soare sau radiații ultraviolete în timpul utilizării COC. Acest medicament conține lactoză monohidrat 48,17 mg per comprimat. Pacientele cu afecțiuni ereditare rare de intoleranță la galactoză, deficit de lactază (Lapp) sau sindrom de malabsorbție la glucoză-galactoză nu trebuie să utilizeze acest medicament. Acest medicament conține lecitină de soia 0,070 mg per comprimat. Pacientele cu hipersensibilitate la alune sau soia nu trebuie să utilizeze acest medicament. **Reacții adverse:** La femeile care utilizează COC au fost raportate următoarele evenimente adverse grave: Hipertensiune arterială; Tumori hepatice; Apariția sau agravarea unor afecțiuni, pentru care asocierea cu administrarea COC nu este concludentă: boala Crohn, colită ulcerativă, epilepsie, migrenă, miom uterin, porfirie, lupus eritematos sistemic, herpes gestațional, coree Sydenham, sindrom hemolitic-uremic, icter colestatic, Cloasmă; Tulburări acute sau cronice ale funcției hepatice, care pot necesita întreruperea tratamentului cu COC, până când valorile testelor funcțiilor hepatice revin la limita valorilor normale; la femeile cu angioedem ereditar, estrogenii exogeni pot induce sau exacerba simptomele angioedemului. **Numărul certificatului de înregistrare:** 22194 **Data autorizării:** 21.12.2015 **DATA REVIZIILOR TEXTULUI:** Decembrie 2015. **STATUTUL LEGAL:** Cu prescripție medicală.

„Acest material publicitar este destinat persoanelor calificate să prescrie, să distribuie și/sau să elibereze medicamente”.  
Informații detaliate privind acest medicament sunt disponibile pe site-ul Agenției <http://nomenclator.amed.md/>



**DENUMIREA COMERCIALĂ A MEDICAMENTULUI:** Belara 2 mg/0,03 mg, comprimate filmate. **COMPOZIȚIA CALITATIVĂ ȘI CANTITATIVĂ:** Un comprimat filmat conține acetat de clormadinonă 2 mg (echivalent cu 1,71 mg clormadinonă) și etinilestradiol 0,030 mg. **FORMA FARMACEUTICĂ:** Comprimate filmate. **Indicații terapeutice:** Contracepție hormonală. **Doze și mod de administrare:** Un comprimat filmat trebuie administrat zilnic, la aceeași oră (de preferință seara), timp de 21 zile consecutive, urmate de o pauză de 7 zile în care nu se vor administra comprimate filmate; după două până la cel mult patru zile de la administrarea ultimului comprimat filmat, trebuie să apară o sângerare de întrerupere, similară sângerării menstruale. După intervalul de șapte zile în care nu se administrează medicamentul, tratamentul trebuie continuat cu următoarea cutie de Belara, indiferent dacă sângerarea s-a oprit sau nu. Comprimatele filmate trebuie scoase din blister prin apăsare, la poziția marcată cu ziua corespunzătoare din săptămână și trebuie înghițite întregi, eventual cu puțin lichid, dacă este necesar. Comprimatele filmate trebuie administrate zilnic, urmând direcția indicată de săgeată. **Contraindicații:** Contraceptivele hormonale combinate (CHC) nu trebuie utilizate în următoarele condiții. Dacă una dintre afecțiunile prezentate apare pentru prima dată pe perioada folosirii CHC, administrarea medicamentului trebuie întreruptă imediat: Diabet zaharat necontrolat terapeutic; Hipertensiune arterială necontrolată terapeutic sau creșterea semnificativă a tensiunii arteriale (valori care depășesc în mod constant 140/90 mm Hg); Prezența sau riscul de tromboembolism venos (TEV); Prezența sau riscul de tromboembolism arterial (TEA); Hepatită, icter, tulburări ale funcției hepatice până la normalizarea valorilor funcției hepatice; Prurit generalizat, colestază, în special manifestate în timpul unei sarcini precedente sau al terapiei estrogenice; Sindrom Dubin-Johnson, sindrom Rotor, tulburări ale fluxului biliar; Antecedente de tumori hepatice sau tumori hepatice actuale; Durere epigastrică severă, hepatomegalie sau simptome de hemoragie intra-abdominală; Prima manifestare sau recurența porfiriei (toate cele trei forme de porfirie, dar în special porfiria dobândită); Existența sau suspectarea de malignități dependente de hormoni sexuali (de exemplu al organelor genitale sau al sânilor); Tulburări severe ale metabolismului lipidic; Pancreatită prezentă sau în antecedente, dacă este asociată cu hipertrigliceridemie severă; Simptome de cefalee migrenoasă manifestate pentru prima dată sau apariția mai frecventă a cefaleei neobișnuit de severă; Tulburări senzoriale acute, de exemplu tulburări vizuale sau acustice; Tulburări motorii (în special pareze); Creșterea frecvenței cizelor epileptice; Depresie severă; Otoscleroza agravată în timpul sarcinilor anterioare; Amenoree inexplicabilă; Hiperplazie endometrială; Sângerări vaginale de etiologie necunoscută; Hipersensibilitate la acetat de clormadinonă, etinilestradiol sau la oricare dintre excipienții. **Atenționări și precauții speciale:** Fumatul crește riscul reacțiilor adverse severe cardiovasculare în cazul utilizării contraceptivelor hormonale combinate (CHC). Acest risc crește odată cu înaintarea în vârstă și cu consumul de țigări și este foarte pronunțat la femei cu vârste de peste 35 ani. Femeile fumătoare cu vârsta peste 35 ani trebuie să utilizeze alte metode contraceptive. Administrarea CHC este asociată cu un risc crescut de producere a unor afecțiuni grave, cum sunt infarct miocardic, tromboembolie, accident vascular cerebral sau tumori hepatice. Riscul morbidității și mortalității crește semnificativ în prezența altor factori de risc, cum sunt hipertensiunea arterială, hiperlipidemia, obezitatea și diabetul zaharat. **Tromboembolism și alte afecțiuni vasculare:** Rezultatele studiilor epidemiologice arată, că există o conexiune dintre administrarea contraceptivelor hormonale și apariția riscului afecțiunilor tromboembolismului venos sau arterial, de ex. infarct miocardic, apoplexie, tromboza venoasă profundă și embolie pulmonară. Aceste evenimente sunt rare. Extrem de rar s-a raportat apariția trombozei la nivelul altor vase de sânge, de exemplu venele și arterele hepatice, mezenterice, renale sau retiniene, la utilizatoarele de CHC. **Tumori:** În unele studii epidemiologice s-a observat că utilizarea CHC timp îndelungat poate duce la creșterea riscului de cancer de col uterin, dar persistă o controversă privind gradul în care această constatare este atribuită unor factori asociați, de

# Belara®

0,03 mg etinilestradiol și 2 mg acetat de clormadinonă

## ...pur și simplu feminin!

exemplu comportamentului sexual sau infecția cu virusul papilomului uman (HPV). **Alte afecțiuni:** Următoarele afecțiuni au fost raportate că apar sau se agravează atât o dată cu sarcina, cât și cu utilizarea CHC, dar dovada unei asocieri cu utilizarea CHC nu este clară: icter și/sau prurit legate de colestază; litiază biliară; porfirie; lupus eritematos sistemic; sindromul hemolitic uremic; coreea Sydenham; herpes gestațional; pierderea auzului legată de otoscleroză. **Precauții:** Administrarea de estrogeni sau asocieri de estrogen/progesteron poate avea efecte negative asupra anumitor afecțiuni/situații patologice. Este necesar consult medical de specialitate în următoarele cazuri: epilepsie; selezoză multiplă; tetanie; migrenă; astm bronșic; insuficiență cardiacă sau renală; choree minoră; diabet zaharat; afecțiuni hepatice; dislipoproteinemie; boli autoimune (incluzând lupus eritematos sistemic); obezitate; hipertensiune arterială; endometrioză; boală venoasă varicoasă, flebită; coagulopatii; mastopatie; fibrom (miom) uterin; herpes gestațional; depresie; boală intestinală inflamatorie cronică (boala Crohn, colită ulcerativă). **Reacții adverse:** a) Studiile clinice cu Belara au arătat că cele mai frecvente reacții adverse (> 20%) au fost: sângerări intermenstruale neregulate, microhemoragii, cefalee și mastalgii. Într-un studiu clinic care a cuprins 1629 femei cărora li s-a administrat Belara, s-au raportat următoarele reacții adverse. **Descrierea reacțiilor adverse selectate:** S-au raportat de asemenea următoarele reacții adverse în cazul administrării asociate de contraceptive hormonale combinate inclusiv etinilestradiol 0,030 mg și acetat de clormadinonă 2 mg: S-a observat un risc crescut de evenimente trombotice și tromboembolice arteriale și venoase, inclusiv infarct miocardic, accident vascular cerebral, atacuri ischemice tranzitorii, tromboză venoasă și embolie pulmonară la femeile care utilizează CHC. În unele studii s-a raportat un risc crescut de afecțiuni ale tractului biliar în cazul administrării prelungea a COC. Există controverse cu privire la posibilitatea formării unor calculi biliari în timpul tratamentului cu medicamente care conțin estrogen. În cazuri rare s-au observat tumori hepatice benigne iar în cazuri foarte rare, s-au observat tumori hepatice maligne după administrarea contraceptivelor hormonale orale; în cazuri izolate s-au produs hemoragii intra-abdominale cu risc vital. Agravarea bolii intestinale inflamatorii cronice (boala Crohn, colită ulcerativă). **Numărul certificatului fe înregistrare:** 21597. **Data autorizării:** 20.03.2015. **DATA REVIZUIRII TEXTULUI:** Noiembrie 2015. **Statutul legal:** Acest medicament se eliberează pe bază de prescripție medicală.

„Acest material publicitar este destinat persoanelor calificate să prescrie, să distribuie și/sau să elibereze medicamente”.  
Informații detaliate privind acest medicament sunt disponibile pe site-ul Agenției <http://nomenclator.amed.md/>

REPUBLICA MOLDOVA, CHIȘINĂU  
**ISSN 1810-5289**