

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE**

**“CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI**

**ȘCOALA DOCTORALĂ**

**OBSTETRICĂ-GINECOLOGIE**

**VALOAREA ADN-ULUI CIRCULANT FETAL DIN SÂNGELE  
MATERN ÎN PREDICȚIA ANOMALIILOR  
CROMOZOMIALE FETALE ÎN DIAGNOSTICUL PRENATAL  
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**Conducător de doctorat:**

**PROF. UNIV. DR. CÎRSTOIU MONICA MIHAELA**

**Student-doctorand:**

**VASILESCU SORIN-LIVIU**

**ANUL**

**2018**

# Cuprins

Introducere	6
PARTEA GENERALĂ	12
Capitolul 1. Studiul ADN-ului	12
1.1. Definiția și structura ADN-ului	12
1.1.1. Definiția ADN-ului	12
1.1.2. Structura ADN-ului	12
1.1.3. Clasificarea ADN-ului	14
1.2. Rolul genetic al ADN-ului	17
1.3. Genomul uman	18
1.4. ADN-ul circulant fetal	19
1.4.1. Definiție și surse de proveniență	19
1.4.2. Concentrația și structura ADN-ului fetal	22
1.4.3. Clearance-ul ADN-ului fetal	22
1.4.4. Frația fetală	23
1.4.5. Utilizarea curentă a ADN-ului fetal	25
1.4.6. ADN-ul fetal în sarcinile gemelare	26
1.4.7. ADN-ul fetal în sarcinile obținute prin tehnici de reproducere asistată	27
1.4.8. Indicațiile ADN-ului fetal asociate markerilor ultrasonografici	28
1.4.9. Corelația dintre ADN fetal și factori materni/fetali	29
1.4.10. Limitele testării ADN-ului fetal	30
1.4.11. Implicații sociale, etice și legale ale testării ADN-ului fetal	30
Capitolul 2. Anomalii cromozomiale	32
2.1. Cromozomii umani	32
2.1.1. Definiția și morfologia cromozomilor umani	32
2.1.2. Clasificarea cromozomilor umani	32
2.2. Anomalii cromozomiale	34

2.2.1. Principalele tipuri de anomalii cromozomiale	34
2.2.1.1. Anomalii numerice	34
2.2.1.2. Anomalii structurale	37
2.2.2. Principalele sindroame genetice identificate în diagnosticul prenatal	43
2.2.2.1. Principalele sindroame determinate de anomalii cromozomiale numerice	43
2.2.2.2. Principalele sindroame determinate de anomalii cromozomiale structurale	46
2.3. Metode de determinare a ADN-ului fetal și cariotiparea	47
2.3.1. Tehnici de determinare a concentrației de ADN fetal	47
2.3.2. Tehnici de testare genetică	50
Capitolul 3. Testarea prenatală a anomaliilor cromozomiale	52
3.1. Definiție	52
3.2. Screening-ul prenatal al anomaliilor cromozomiale	52
3.3. Diagnosticul prenatal al anomaliilor cromozomiale	54
3.3.1. Definiția diagnosticului prenatal	54
3.3.2. Indicațiile diagnosticului prenatal	54
3.4. Modalități de realizare a diagnozei prenatale	55
3.4.1. Diagnosticul genetic preimplantațional	55
3.4.2. Tehnici invazive	55
3.4.3. Tehnici neinvazive	61
 PARTEA SPECIALĂ	
Capitolul 4. Scopul și obiectivele studiului	74
Capitolul 5. Materiale și metode	75
Capitolul 6. Rezultate	90
Capitolul 7. Discuții	183
Capitolul 8. Limitele studiului și direcții viitoare de cercetare	192
Capitolul 9. Concluzii	194
Bibliografie	198

## Introducere

Ultimii 25 de ani au fost martori la o serie de progrese remarcabile în contextul screening-ului prenatal al anomaliilor fetale, screening ce, pe baza introducerii unor avansate tehnici genetice, a devenit un proces dinamic, aflat într-o permanentă stare de evoluție. Astfel, odată cu descoperirea ADN-ului fetal în serul matern în 1997 și introducerea testării sale în practica clinică în 2011, paradigma testării prenatale a fost modificată semnificativ, revoluționarea metodelor de screening conducând către realizarea unui test "ideal", capabil de a detecta anomalii cromozomiale structural sau numerice, dar și boli monogenice.

Deși este definit ca fiind un test screening, NIPT a devenit, datorită sensibilității și specificității ridicate, o alternativă atractivă a screening-ului convențional, însă cu asocierea unor considerente morale, etice și legale.

Cu o valoare predictivă pozitivă superioară în cazul gravidelor cu risc înalt de aneuploidii, testarea ADN-ului fetal liber circulant este indicată de către ACOG a se realiza doar în cinci situații, respectiv atunci când vârsta maternă > 35 ani, în prezența markerilor ultrasonografici înalt sugestivi pentru aneuploidii, la paciente cu antecedente de sarcină trisomică, în prezența unui rezultat al screening-ului de prim sau trimestrul doi pozitiv sau translocatie robertsoniană balansată parentală cu risc crescut de trisomie 13 sau 21 fetală [1]. De asemenea, conceptul conform căruia NIPT ar putea substitui modalitățile de diagnostic invaziv al anomaliilor cromozomiale, în vederea reducerii complicațiilor ce apar în cadrul acestor proceduri, este demontat, în ciuda progresului tehnic, în principal de totalitatea factorilor materni și fetalii ce influențează fracția fetală.

Diagnosticul genetic al unei anomalii fetale este o problemă de sănătate majoră, cu implicații complexe, atât medicale, cât și psihosociale. Prin urmare, realizarea unei teze, bazată pe analiza datelor din literatura de specialitate și concepută prin prisma unui studiu prospectiv, în care să fie evidențiat impactul testării prenatale neinvazive asupra unui lot cu risc înalt de aneuploidii, în scopul de a reduce mortalitatea și morbiditatea perinatală, mi s-a părut de înalt interes. Motivarea abordării analizei valorii ADN-ului fetal liber circulant în predicția aneuploidiilor a luat naștere din necesitatea evaluării acurateții testului, mai ales în situația în care folosirea acestuia a devenit accesibilă.

Utilizând ultimele cercetări în domeniu, lucrarea a fost elaborată pe baza dorinței de a aborda atât avantajele, cât și limitele pe care testarea prenatală neinvazivă le deține, printr-o evaluare a factorilor materni și fetalii ce pot influența acuratețea testului, a capacității acestuia de a înlocui ocazional tehnici de screening convenționale, inclusiv ultrasonografia, a evidențierii relației semnificativ statistice cu majoritatea anomaliilor cromozomiale. Progresul pe care genetica moleculară l-a susținut de-a lungul ultimilor ani a fost evidențiat pe parcursul tezei prin compararea progresivă a studiilor din literatura de specialitate, subliniind încercarea continuă de a minimiza rata de eșec și a îmbunătăți performanța testului.

Prin studierea lotului de paciente, scopul lucrării a fost reprezentat de confirmarea posibilităților pe care testarea ADN-ului fetal le oferă și verificarea rezultatului acestuia în situațiile în care a fost performat un test invaziv de diagnostic. Determinarea impactului factorilor materni și fetalii asupra valorii testului prenatal neinvaziv este realmente necesară în vederea influenței acestora asupra ratei de eșec, dar și a stabilirii relației de cauzalitate dintre varietatea procentuală pe care cantitatea de ADN liber circulant cu proveniență exclusivă de la nivelul placentei o are în diverse sindroame genetice.

Exemplificarea influenței factorilor materni și fetalii se face pe parcursul tezei prin analizarea studiilor de specialitate, comparativ cu rezultatele obținute în lotul studiat. De asemenea, lucrarea se bazează pe evaluarea lotului de studiu din punct de vedere al indicației de efectuare a NIPT în funcție de antecedentele patologice personale sau heredocolaterale ale gravidei, în vederea stabilirii corelației dintre acestea și performanța testării ADN-ului fetal, din punct de vedere al sensibilității și specificității acestuia într-un grup vast de aneuploidii.

Stabilirea performanței testării prenatale neinvazive este prezentată în cadrul lucrării în asociere cu o descriere succintă a celor mai importante aneuploidii, în vederea sublinierii conexiunilor cu noutățile din domeniu și extrapolării acestora la lotul de studiu.

Astfel, în prezent, la nivel național, nu există posibilitatea de substituție a screening-ului convențional, prin dozările markerilor serici materni în corelație cu aspectele ultrasonografice, cu analiza ADN-ului fetal liber circulant, în ciuda sensibilității și specificității crescute a acestuia din urmă asupra unei game largi de boli genetice/sindroame genetice, mai ales din cauza lipsei de acces la informație și a costului financiar.

Lucrarea de față este bazată pe aplicabilitatea clinică a testării prenatale neinvazive și nu pe testarea efectivă genetică ce implică determinarea specificității sau a sensibilității testului.

În Partea generală a lucrării, am urmărit evidențierea celor mai relevante aspecte cu impact asupra screening-ului prenatal, sublinierea conduitei și investigațiilor ce conduc, în cadrul diagnosticului prenatal, la descoperirea aneuploidiilor.

Astfel, **Capitolul 1** aduce în prim plan noțiuni fundamentale despre acidul dezoxiribonucleic, realizând o introducere în înțelegerea structurii și a rolului ADN-ului fetal, ce devine subiectul central al acestei părți a lucrării. ADN-ul fetal liber circulant, definit ca fiind ADN-ul fetal ce circulă liber prin fluxul sanguin matern, este descris în principal prin prisma provenienței sale din ambele unități placentare, atât maternă, cât și fetală. Astfel, este recunoscut, ca principală sursă de origine, procesul de apoptoză a celulelor placentare de la nivelul sincițiotrofoblastului, în timp ce sursa maternă de ADN fetal liber circulant este reprezentată de celulele hematopoietice [2-4].

Ipoteza conform căreia ADN-ul fetal liber circulant își are originea în principal la nivelul placentei a fost confirmată prin testarea nivelului acestuia în cazul sarcinilor anembrionare, observându-se nicio diferență statistică între concentrațiile de ADN fetal între sarcinile de prim trimestru și cele anembrionare, în urma cuantificării prin PCR a genei DYS14 de pe cromozomul Y, în scopul determinării sexului fetal din plasmă sau țesut corionic.

ADN-ul de origine fetală reprezintă aproximativ 11-13.4% din cantitatea totală de ADN liber circulant din sângele matern, cu o variabilitate mare a acestui procent la fiecare pacientă în parte [5].

ADN-ul fetal liber circulant poate fi izolat din sângele matern cel mai devreme la 5 săptămâni de gestație și întotdeauna la 9 săptămâni de gestație. Concentrația acestuia crește lent (0.1% pe săptămână) între 10-20 săptămâni de sarcină, pentru ca apoi să crească rapid până la termen (1% pe săptămână), concentrație ce dispune de o relație direct proporțională cu vârsta gestațională și invers proporțională cu greutatea maternă [4,5].

ADN-ul liber circulant dispune de un înalt proces de fragmentare, cu fiecare fragment format din aproximativ 50-200 perechi de baze. Dimensiunea fragmentelor este relaționată precis cu un pattern clar stabilit prin care ADN-ul este înconjurat de proteine histonice pentru a forma nucleozomi, pattern diferit între ADN-ul liber circulant cu apartenență maternă și fetală, fragmentele mai lungi având origine cel mai probabil maternă [6].

Fracția fetală reprezintă procentul de ADN fetal cu proveniență strict de la nivelul placentei. Între 10-20 săptămâni de gestație, o medie a fracției fetale se încadrează între 10-

15%, însă cu limite de sub 3 și peste 30%. Faptul că valori de 3-4% ale fracției fetale duc la rezultate fals negative a fost demonstrat prin prisma sarcinilor cu sindrom Down, ale căror rezultate pozitive au fost corelate cu concentrații crescute ale fracției fetale. De asemenea, o concentrație scăzută a acesteia, asociată cu prezența rezultatelor fals negative, este frecvent întâlnită la gravidele obeze. Nu în ultimul rând, în cazul existenței unui mozaicism, a fost evidențiată o reducere a fracției fetale [7].

Corelația între concentrația fracției fetale și diverși factori, cum ar fi greutatea maternă, rasa, statusul fumător-nefumător, concentrațiile de PAPP-A și  $\beta$ -HCG în serul matern, translucența nucală, lungimea cranio-caudală, sexul și cariotipul, a fost analizată în vederea evidențierii existenței unor factori predictori ai fracției fetale.

Semnificative au fost asocierile între fracția fetală și greutatea maternă și nivelurile de PAPP-A și  $\beta$ -HCG, astfel: o creștere a fracției fetale concomitentă cu creșterea nivelului metabolizilor serici și o scădere a acesteia odată cu creșterea greutății materne [8]. Relația dintre nivelul seric scăzut al PAPP-A și cel crescut de ADN fetal liber circulant în primul trimestru de sarcină s-a dovedit, deși cu importanță redusă semnificativă statistică, ambii markeri descriind funcția placentară, cu importanță în predicția sarcinilor la risc.

*Factori care influențează fracția fetală, ducând, în consecință, la un rezultat fals negativ:*

1. *Vârsta gestațională mică.* Înainte de 10 săptămâni de sarcină, fracția fetală este scăzută substanțial, prin urmare este recomandată realizarea screening-ului după această vârstă gestațională, având ca scop obținerea a cel puțin 4% din cfADN matern total. La sfârșitul trimestrului întâi de sarcină și începutul celui de-al doilea, cfADN înregistrează un total de aproximativ 13% în circulația maternă [4,9], pentru ca în apropiere de termen să însumeze aproximativ 50%.
2. *Colectarea suboptimală a probei* [4].
3. *Obezitatea.* Între greutatea maternă și fracția fetală există o relație invers proporțională, înregistrându-se o scădere semnificativă a acesteia din urmă în caz de câștig ponderal excesiv. O cauză a acestui fenomen poate fi atribuită diluării unei cantități relativ constante de ADN fetal într-un volum plasmatic mai crescut, cât și creșterii concentrației de ADN fetal de origine maternă [4].

4. *Cariotipul fetal*. Frația fetală medie între 10-20 săptămâni de gestație este mai mică în sarcinile cu trisomia 18 (9%) decât în sarcinile cu făt euploid (13%) sau în sarcinile cu făt cu sindrom Down (15%). Acest lucru explică de ce rata de detecție a sindromului Down este mai mare decât cea pentru trisomia 18. [4,10,11].

5. *Anomalii cromozomiale materne*, ce pot fi interpretate în context eronat fătului: cariotip 47,XXX neasociat cu mozaic, un grad redus de mozaicism ce afectează un autozom, un neoplasm cu cariotip anormal. Mozaicul celulelor somatice materne este frecvent asociat cu pierderea sau câștigul unui cromozom X [12].

6. *Sarcini multiple sau "vanished twin"*.

În ceea ce privește *indicațiile uzuale ale testării prenatale neinvazive*, menționăm:

1. Test de paternitate, începând cu săptămâna a 9-a de sarcină.
2. Identificarea sexului fetal, cu importanță deosebită în cazul gravidelor purtătoare de boli X-linkate, distrofia musculară Duchenne și hemofilia fiind cele mai frecvente patologii. Determinarea cu acuratețe a sexului fetal se poate face începând cu săptămâna a 7-a de gestație, spre deosebire de examinarea ecografică ce nu poate fi efectuată până în săptămâna a 11-a, reducând astfel numărul de teste invazive necesare [13].
3. Stabilirea prezenței factorului D Rhesus la gravide Rh negative, cu feți Rh pozitiv, cu o sensibilitate de 95-100% și o specificitate mai mare de 99%, având importanță clinică în sarcinile la risc înalt pentru boala hemolitică a nou-născutului [14,15].
4. Boli monogenice, atât autozomal dominante, cât și recesive, precum fibroza chistică, beta-talasemia, atrofia musculară spinală, sindromul X fragil, au fost diagnosticate utilizând ADN-ul fetal liber circulant de origine paternă [16,17].
5. Screening-ul pentru aneuploidii. S-a constatat un nivel crescut al ADN-ului fetal în trisomiile 13 și 21 și un nivel scăzut în trisomia 18 [18].
6. Identificarea riscului de apariție a preeclampsiei [19,20].

Utilizarea ADN-ului fetal în diagnosticul aneuploidiilor în *sarcinile gemelare* a fost propus încă din anul 2013, fiind indicat în sarcina monozigotică sau dizigotică, în sarcinile obținute spontan sau prin tehnici de reproducere asistată și având ca și criteriu viabilitatea fetală [21]. Deși sexul fetal poate fi determinat analizând ADN-ul fetal liber circulant începând cu

săptămâna a 9-a de sarcină, evaluarea acestuia a fost dificilă în contextul sarcinilor gemelare sau multiple [22].

Evaluarea fracției fetale a constituit o limitare a acestui test în sarcinile dizigotice, în care feții, genetic distincți, contribuiau diferit la valoarea ADN-ului fetal liber circulant, spre deosebire de sarcinile monozigote ce puteau fi tratate similar unei sarcini unice din prisma bagajului genetic identic [23]. În consecință, în cazul unei sarcini gemelare dizigotice cu unul dintre feți trisomic, fracția fetală poate avea valori satisfăcătoare, însă cu proporții inegale de la cei doi feți, contribuția acestuia fiind redusă (sub 4%) și exprimând astfel un rezultat fals negativ.

Un studiu efectuat de LeConte în 2018 a demonstrat o specificitate de 99.8% a NIPT pentru trisomia 21 în sarcinile gemelare [24]. O altă limitare a testării prenatale neinvazive este reprezentată de situațiile în care prezența "geamănului dispărut" poate modifica rezultatele prin analiza eronată a secvenței de ADN liber circulant corespunzătoare acestuia [21].

În 2005, un studiu efectuat de către Pan și co, în vederea confirmării teoriei conform căreia *sarcinile obținute prin fertilizare in vitro* sunt asociate, în trimestrul doi de sarcină, cu un nivel ridicat de  $\beta$ -HCG ce influențează creșterea valorilor ADN-ului fetal liber circulant, nu a demonstrat nicio corelație între cei doi markeri serici, concluzionând că fracția fetală nu este influențată de tehnicile de reproducere asistată [25].

În 2018, Lee și co. au ridicat întrebări legate de diferențele dintre valoarea fracției fetale, a ratei de eșec a testului sau a valorii predictive pozitive în cadrul sarcinilor obținute prin fertilizare in vitro, comparativ cu cele obținute spontan. Studiul efectuat pe un lot de 4633 sarcini obținute spontan și 992 obținute prin FIV a avut ca rezultat obținerea unei fracții fetale mai reduse în cazul celor din urmă (10.3% față de 11.9%), o rată de eșec a testului mai înaltă (5.2%, spre deosebire de 2.2%). Totuși, analiza de regresie logistică a concluzionat că tehnica de reproducere asistată și indicele de masă corporală crescut sunt factori independenți asociați cu erorile de testare. Totodată, valoarea predictivă pozitivă în sarcinile obținute prin FIV pentru trisomiile 13 și 18 a fost redusă, spre deosebire de cea asociată sindromului Down de 100% [26].

Teoretic, orice condiție ce determină creșterea turnover-ului celular în serul matern, în absența creșterii celui placentar, poate conduce la reducerea fracției fetale și la creșterea riscului de eșec al screening-ului.

*Factori materni ce influențează fracția fetală:*

- a. Greutatea maternă crescută, descrisă mai sus, este, alături de indicele de masă corporal crescut și de creșterea volumului de sânge, cel mai important factor matern asociat cu scăderea fracției fetale [27].
- b. Bolile autoimune, descrise printr-un turnover celular crescut, au ca și exemplu lupusul eritematos sistemic, în care procese precum scurtarea fragmentelor de ADN fetal circulant, hipometilarea acestora sau sub/suprareprezentarea regiunilor genomice, determină reducerea fracției fetale [27].
- c. Medicația: heparina cu greutate moleculară mică determină obținerea unei proporții înalte de fragmente ADN fetal reduse, ducând la interferențe cu performanța testului, însă fără a fi cunoscut exact mecanismul de acțiune. Imunoglobulina iv utilizată în tratamentul bolilor autoimune, spre deosebire, pare a fi asociată cu creșterea variațiilor ADN-ului fetal [27,28].
- d. Transplantul de organe de la un donator de sex masculin poate reda eronat sexul fetal, prin eliberarea secvențelor ADN legate de cromozomul Y. Screening-ul gravidelor ce au beneficiat de transplant de celulele stem sau sarcinile obținute prin donare de ovocite, se va realiza numai prin secvențierea shotgun [27,29].
- e. Vârsta maternă, anemia maternă, diabetul zaharat pre-existent sarcinii, infecția cu VHB sau hipertiroidismul nu influențează fracția fetală [27,30].
- f. Hipertensiunea arterială pre-existentă sarcinii conduce la reducerea fracției fetale, teorie confirmată și de un studiu efectuat de Zhou în 2015, bazat pe un lot de 23067 de sarcini, în urma căruia a fost constatată o scădere semnificativă a ADN-ului fetal liber circulant [30].
- g. Statusul fumător-nefumător matern nu influențează fracția fetală [31].
- h. Markerii serici materni (gonadotropina corionică umană și proteina plasmatică asociată sarcinii A) sunt asociați cu creșterea fracției fetale [31].
- i. Cancere materne precum limfom, leucemie, neoplasm colorectal sau anal sau tumori benigne (leiomiom) au fost asociate cu rezultate anormale ale NIPT, prin eliberarea în circulația maternă a ctADN [27,32].

*Factori fetali ce influențează fracția fetală [27]:*

- a. factori care duc la creșterea FF: vârsta gestațională, lungimea cranio-caudală, trisomia 21
- b. factori care duc la reducerea FF: mozaicism fetal, trisomiile 18 și 13, sarcina triploidă diginică, sarcina multiplă (fracție redusă/fetus)
- c. factori care nu influențează fracția fetală: sexul fetal, translucența nucală.

*Limitele NIPT sunt reprezentate de:*

a. Mozaicismul placentar limitat. În aproximativ 0.1% dintre cazuri, există o discordanță între rezultatul pozitiv al NIPT și cariotipul fetal efectuat în urma unei proceduri invazive de diagnostic. Fiind descris în 1-2% din probele prelevate în cadrul biopsiei de vilozități coriale, mozaicismul placentar limitat poate fi subdivizat în 3 tipuri, în funcție de afectarea citotrofoblastului, a mezenchimului, sau a ambelor straturi. Asociază o rată crescută a avorturilor spontane, a restricției de creștere intrauterină, a hipertensiunii induse de sarcină [33].

b. Anomalii monogenice, precum acondroplazia sau boala Huntington, pot fi diagnosticate numai în urma excluderii analizei genelor moștenite de pe linie paternală sau cele de novo. În această situație, NIPT necesită identificarea genelor modificate în circulația maternă și poate fi utilizat pentru a detecta o modificare genică ce nu este prezentă la mamă, existând un număr redus de rapoarte în literatura de specialitate [14].

Implementarea testării prenatale neinvazive a semnalat numeroase motive de îngrijorare, în principal din cauza costului excesiv și a îndoielilor în ceea ce privește sensibilitatea testului. Una dintre preocupările etice majore este reprezentată de lipsa unei consilieri genetice adecvate și realizarea testării sub consimțământul informat al gravidei, rezultatele surprinzătoare ale testului putând avea implicații emoționale sau sociale semnificative și poate interfera cu autonomia reproductivă, aspect deosebit de important în țările occidentale. Lipsa unui consimțământ informat adecvat este cauzată în principal din cauza riscului redus pe care îl presupune procedura, în comparație cu tehnicile invazive de diagnostic, simplitatea testului putând duce la rutinizarea procedurii. Un rezultat nefavorabil al NIPT poate ridica probleme etice și legale în cazul dorinței pacientei de a recurge la întreruperea cursului sarcinii, fără a efectua o metodă invazivă diagnostică. De asemenea, utilizarea NIPT în vederea determinării

sexului fetal implică factori socio-culturali în unele țări asiatice, unde se practică o selecție a sexului masculin și, prin urmare, întreruperea cursului sarcinii bazată pe sexul fetal [34].

**Capitolul 2** al lucrării pune sub „lupă” structura cromozomilor umani, cu accent asupra mutațiilor ce pot apărea la nivelul acestora. Astfel, sunt descrise succint anomaliile cromozomiale numerice și structurale, dar și încadrarea acestora în sindroame genetice ce pot fi identificate prin testare prenatală neinvazivă. Legat de acest ultim aspect, accentul a fost pus pe stabilirea acurateții testării ADN-ului fetal liber circulant în diagnosticul aneuploidiilor descrise și mai puțin pe tabloul clinic al sindroamelor genetice. De asemenea, în jurul tehnicilor de determinare a concentrației de ADN fetal, a fost conturat un subcapitol cu rol în evidențierea tehnicilor genetice de estimare a fracției fetale.

Revoluționară în diagnosticul genetic a fost introducerea secvențierii de nouă generație, tehnică ce scanează cele 3 miliarde de baze din genomul uman de multiple ori, permițând astfel analiza variațiilor ADN și verificarea tuturor celor 22000 de gene codante, prin urmare a întregului exon. Aceasta își găsește îndeosebi utilitatea în diagnosticul mozaicului, iar singura limitare a sa este reprezentată de regiunile cu conținut anormal de guanină/citozină (spre exemplu, expansiunile repetate ale acestor baze ce duc la alterarea arhitecturii cromozomiale, ascunzând diagnosticului bolii Huntigton sau sindromului X Fragil) [35].

Secvențierea întregului exon, cea mai recentă tehnică introdusă în diagnosticul prenatal, permite diagnosticul unor sindroame în cadrul unor feți cu cariotip normal, dar modificări ultrasonografice prezente (spre exemplu sindromul Noonan asociat cu translucență nucală crescută). Spre deosebire de cariotiparea clasică și de analiza cromozomială microarray ce pot identifica 20-30% dintre sindroamele ale căror suspiciune a fost ridicată de examenul ultrasonografic, WES propune secvențierea întregului exon codant, ce reprezintă 2% din genom, dar care conține 85% dintre mutațiile susceptibile de a produce mutații [36].

**Capitolul 3** conturează tema centrală a lucrării, și anume, stabilirea definiției screening-ului și diagnosticului prenatal și a instrumentelor prin care acestea se pot realiza. Acest capitol a avut ca rol evidențierea importanței introducerii în practica clinică a testării prenatale neinvazive, cu rol în reducerea testelor invazive de diagnostic și, inclusive, a complicațiilor pe care acestea le presupun. Ca urmare, diagnosticul prenatal, exemplu eficient al integrării medicinei teoretice și clinice, reprezintă o corelație între genetica medicală și ginecologie, ce implică utilizarea metodelor citogenetice, genetice, a citogeneticii moleculare, dar și includerea

progreselor în domeniul ultrasonografice pentru diagnosticarea timpurie și fiabilă a malformațiilor congenitale [37].

Disponând de un caracter complex și informativ, acest act medical este descris ca fiind un instrument predictibil eficient în detectarea bolilor genetice și a malformațiilor congenitale, fiind dedicat sarcinilor cu risc crescut, risc determinat fie prin efectuarea screening-ului, fie în urma consilierii genetice a cuplurilor cu risc.

Indicațiile diagnosticului prenatal cuprind:

1. Vârsta maternă peste 35 ani și paternă peste 55 ani. În aceste situații, există riscul de formare anormală a gameților printr-o nondisjuncție cromozomială meiotică. Vârsta maternă înaintată este asociată cu un risc de apariție a unei anomalii cromozomiale, în timp ce cea a tatălui este asociată cu riscul de a da naștere unui nou-născut cu boală monogenică. Jumătate dintre anomaliile cromozomiale diagnosticate sunt reprezentate de trisomia 21 [37,38].
2. Istoric familial pozitiv pentru boli cromozomiale sau monogenice, pentru defecte de tub neural sau alte anomalii morfologice
3. Rude de grad I de malformații congenitale, în special de cord
4. Existența în antecedentele personale a unor sarcini cu anomalii cromozomiale de novo. În asemenea cazuri, riscul de a da naștere unui copil cu o anomalie cromozomială numerică crește cu 1% pentru o nouă sarcină, indiferent de vârsta parentală [37,39].
5. Teste screening pozitive din serul matern, ce au arătat un risc crescut pentru anomalii cromozomiale sau defecte de tub neural
6. Aspect ecografic sugestiv
7. Unul dintre părinți diagnosticat cu o anomalie cromozomială structurală echilibrată. În prezența unei translocării, inversiuni sau inserții cunoscute, riscul de apariție a unei anomalii neechilibrate crește, independent de vârsta maternă [37].
8. Expunerea la agenți teratogeni în principal în primul trimestru
9. Avorturi spontane recurente în antecedente sau nou-născuți morți
10. Boli cronice materne cu posibil impact (diabet zaharat, fenilcetonurie, epilepsie în tratament cu anticonvulsivante)
11. Infertilitate
12. Consanguinitate

Acest capitol prezintă pe lângă aspecte legate de screening-ul convențional, de ultrasonografia de morfologie sau de testele invazive, descrierea succintă a tipurilor de teste prenatale neinvazive disponibile actual, cu punerea accentului pe panelul de aneuploidii ce poate fi detectat, alături de descrierea gradului de sensibilitate și specificitate asociat fiecăruia. Tehnicile genetice utilizate în vederea stabilirii cariotipului fetal, dar și limitele fiecărui test sunt, de asemenea, evidențiate.

Partea specială debutează cu **Capitolul 4**, ce are rol în descrierea scopului studiului și a obiectivelor generale. Astfel, realizarea unui studiu prospectiv, de tip observațional-descriptiv, transversal și prospectiv, bazat pe evidențierea impactului testării prenatale neinvazive asupra unui lot de gravide cu risc înalt de anomalii cromozomiale, în scopul reducerii mortalității și morbidității perinatale mi s-a părut de înalt interes. Aplicabilitatea clinică a acestei modalități de screening este reprezentată prin evaluarea criteriilor maternelor și fetale și de minimizarea numărului de proceduri de testare invazivă și, prin urmare, a riscurilor pe care acestea le implică.

Obiectivele studiului pot fi abordate astfel:

1. Creerea unui profil demografic al lotului de gravide cu risc înalt de aneuploidii
2. Identificarea factorilor materni și fetalii ce pot influența acuratețea testului
3. Identificarea unei posibile relații de cauzalitate între varietatea procentuală a ADN-ului fetal liber circulant și antecedentele patologice personale sau heredocolaterale maternelor
4. Identificarea variabilelor implicate în screening-ul convențional și raportul acestora cu testarea ADN-ului fetal liber circulant
5. Stabilirea diverselor corelații între variabile de risc
6. Identificarea acurateții testării prenatale neinvazive în predicția anomaliilor cromozomiale
7. Realizarea unei comparații între tipurile de teste bazate pe analiza ADN-ului fetal liber circulant și limitele acestora
8. Identificarea rezultatelor în condițiile efectuării unui test invaziv de diagnostic și stabilirea situațiilor în care acesta din urmă devine necesar
9. Sublinierea necesității continue de perfecționare a testelor prenatale neinvazive în vederea reducerii procentului de erori.

**Capitolul 5** include descrierea metodologiei cercetării. Pentru îndeplinirea obiectivelor menționate mai sus, a fost selectat un lot de paciente investigate în cadrul Clinicii de Obstetrică-Ginecologie a Spitalului Universitar de Urgență București, ce au efectuat testare prenatală

neinvazivă. Evaluarea încadrării acestora într-un grup cu risc crescut de aneuploidii a fost realizată prin analizarea unor date demografice, a antecedentelor personale patologice și heredocolaterale (istoric de aneuploidii), dar și a datelor obținute în urma efectuării screening-ului convențional sau a metodelor invazive de diagnostic, informațiile fiind obținute din foile de observație ale gravidelor, dar și din dosarul personal al acestora.

**Capitolul 6** descrie rezultatele obținute în urma analizării lotului urmărit, rezultate ce sunt evidențiate pe larg în cadrul **Capitolului 7** și succint în cadrul **Capitolului 9**, ce a fost dezvoltat în jurul concluziilor studiului. Astfel, cumulând rezultatele obținute pe parcursul studiului și descrise în cele 3 capitole mai menționate mai sus, putem menționa că numărul pacienților ce au efectuat testare prenatală neinvazivă s-a triplat pe parcursul celor 4 ani de studiu (de la 11.13% la 36.03%).

Testarea prenatală neinvazivă a fost efectuată ulterior bi-testului în 82.70% de cazuri, dar din cele 416 de paciente ce au recurs la screening-ul convențional, doar un procent de 49% a avut un risc combinat crescut de aneuploidii. Raportat la sarcinile monofetale, cu o valoare a fracției fetale de peste 4%, doar în 14.29% dintre cazuri testarea prenatală neinvazivă a reprezentat investigația screening de primă intenție.

Riscul de nedetectare a anomaliilor cromozomiale a fost raportat a fi de 10.14%., iar în 2.2% dintre cazurile în care s-a recurs la efectuarea testelor invazive de diagnostic, rezultatul screening expus de testarea prenatală neinvazivă a fost infirmat. Am constatat o reducere a numărului de proceduri invazive de diagnostic cu 45.45%.

Vârsta maternă avansată este direct proporțională cu gradul de adresabilitate al pacienților în vederea efectuării NIPT (52.80%), ducând la obținerea unei corelații semnificative statistic între vârsta maternă și fracția fetală. Între greutatea maternă și fracția fetală am constatat o relație semnificativă statistic, puternică, dar inversă.

Valoarea medie a fracției fetale transformată logaritmic este ușor mai ridicată în sarcinile gemelare, în comparație cu cele monofetale (1.15 vs ,9912).

Raportat la datele statistice generale implicate în screening-ul convențional, am constatat:

1. Între lungimea cranio-caudală, cel mai bun indicator al vârstei gestaționale, și fracția fetală transformată logaritmic există o relație semnificativă statistic, pozitivă ( $r=,512$ ).

2. Între riscul combinat crescut de aneuploidii, obținut în urma realizării bi-testului, și vârsta gestațională în momentul efectuării NIPT există o relație semnificativă statistic, moderată, dar inversă ( $r=-,444$ ).
3. Între riscul combinat crescut de anomalii cromozomiale și fracția fetală transformată logaritmice există o relație semnificativă statistic, inversă ( $r=-,488$ ).
4. Nu există nici corelație cu importanță statistică între dimensiunea translučenței nucale și valoarea fracției fetale.
5. Creșterea variantei procentuale a fracției fetale cu o unitate este asociată cu o creștere a valorii  $\beta$ -HCG cu 0.002, iar a PAPP-A cu 0.003.
6. Între valoarea  $\beta$ -HCG-ului și cazurile soldate cu diagnosticarea sindromului Down există o relație semnificativă din punct de vedere statistic ( $,028$ ).
7. Severitatea aspectului ultrasonografic nu este corelată cu afectarea fracției fetale
8. Hipoplazia/aplazia osului nazal a fost asociată cu sindromul Down într-un procent de 50%.

Raportat la datele statistice legate de istoricul obstetrical matern, am constatat următoarele:

1. Istoricul obstetrical (avorturi/nașteri) în antecedente nu influențează valoarea fracției fetale
2. Sindromul antifosfolipic, în absența tratamentului anticoagulant, deține un efect redus asupra valorii fracției fetale ( $,007$ )
3. Anemia maternă și diabetul zaharat gestational nu influențează fracția fetală
4. Deși valoarea medie a fracției fetale este similară atât în cazurile asociate cu hipertensiune arterială, cât și în cele ce nu au dezvoltat această complicație, există o relație semnificativă statistic între aceasta și riscul de preeclampsie ( $,011$ ).

Raportat la datele statistice generale legate de antecedentele personale și heredocolaterale patologice, am constatat următoarele:

1. Un procent de 12.83% dintre cazurile incluse în lot a prezentat în antecedentele personale anomalii fetale, dintre care 6.83% au fost reprezentate de anomalii ultrasonografice izolate sau neîncadrabile într-un sindrom genetic.
2. Diferența dintre fracția fetală în cadrul anomaliilor ultrasonografice izolate și cele încadrate în sindroame genetice este nesemnificativă statistic ( $,959$  vs.  $,9345$ )
3. 5.8% dintre gravidele incluse în lot au prezentat anomalii fetale în antecedentele heredo-colaterale

4. Între fracția fetală și diagnosticul de fibroză chistică există o relație semnificativă statistic, dar slabă (,027).

Raportat la datele statistice cu privire la ADN-ul fetal liber circulant, am constatat următoarele:

1. Scăderea fracției fetale transformată logaritmice cu 0.0227 în raport cu creșterea greutateii materne cu 5 kg.
2. Asocierea unui risc crescut NIPT cu un aspect ultrasonografic anormal a fost constată într-un procent de 9.1%.
3. Nu există o corelație semnificativă statistic între valoarea ADN-ului fetal și sexul fetal, însă în niciun caz dintre cele 9 sarcini gemelare, sexul fetal nu a fost determinat.
4. Rezultatul neconcludent al testării prenatale neinvazive a fost obținut într-un procent de 0.828%.
5. Valoarea medie a fracției fetale în cazurile diagnosticate cu sindrom Down a fost ușor mai ridicată decât cea medie a cazurilor cu risc scăzut de aneuploidii (,9542 vs. ,9294).

**Capitolul 8** cuprinde descrierea limitelor studiului. Astfel, am constatat că raportarea unui număr mic de cazuri ce au efectuat NIPT și, în consecință, a rezultatelor cu risc crescut de aneuploidii, ce au împiedicat într-o oarecare măsură demonstrarea potențialului înalt al acestui test în screening-ul a numeroase anomalii genetice, ce nu s-au regăsit în studiul nostru.

Numărul redus de sarcini gemelare incluse în studiu, cât și performanța redusă a testului prenatal neinvaziv asupra lor, ce a atins cote înalte la sfârșitul anului 2017, au limitat obținerea datelor legate de capacitatea acestuia de a reda cu acuratețe sexul fetal și riscul de aneuploidie asociat fiecărui făt în parte), dar și scoaterea la lumină a unor viitoare direcții de cercetare.

Lucrarea de doctorat s-a vrut a fi un precursor al unui studiu de fezabilitate național, în vederea implementării testării prenatale neinvazive ca metodă de screening substitutivă celor convenționale, în principal în categoria pacienților cu risc crescut de aneuploidii. De asemenea, introducerea acestuia în asigurările de sănătate ar fi salutară în această categorie, costul tratamentului, al investigațiilor și integrării sociale ale unui individ cu grad ridicat de handicap fiind incomparabil cu cel al testării ADN-ului fetal liber circulând, actualmente prohibitiv.

Testarea ADN-ului fetal liber circulant în vederea stabilirii riscului de anomalii cromozomiale este o metodă de screening superioară, cu o acuratețe crescută, ce își propune reducerea ratei de morbiditate și mortalitate date de aneuploidii.

Deși testarea prenatală neinvazivă a cunoscut un progres remarcabil de la introducerea sa în practica clinică, prin extinderea panel-ului de anomalii ce pot beneficia de screening, există, în prezent, situații care îi limitează performanța, ducând chiar și la omiterea unor diagnostice. Astfel, consider că o creștere a acurateții unui test genetic de diagnostic se poate obține în condițiile unei conduite terapeutice având ca punct de plecare stabilirea unui suspiciuni a unei anomalii genetice, pornind în căutarea unor anomalii cromozomiale fără o suspiciune de diagnostic putând presupune subdiagnosticarea acestora.

## Bibliografie selectivă

1. Allyse M, Minear MA, Berson E, Sridhar S, Rote M, Hung A, Chandrasekharan S. Non-invasive prenatal testing: a review of international implementation and challenges. *International journal of women's health*. 2015; 7: 113.
2. Sekizawa A, Samura O, Zhen DK, et al. Apoptosis in fetal nucleated erythrocytes circulating in maternal blood. *Prenat Diagn*. 2000; 20:886.
3. Lui YY, Chik KW, Chiu RW, et al. Predominant hematopoietic origin of cell-free DNA in plasma and serum after sex-mismatched bone marrow transplantation. *Clin Chem*. 2002; 48:421.
4. Palomaki GE, Messerlian GM, Halliday JV. Prenatal screening for common aneuploidies using cell-free DNA. *UpToDate*. 2017.
5. Wang E, Batey A, Struble C, Musci T, Song K, Oliphant A. Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma. *Prenatal diagnosis*. 2013; 33(7): 662-666.
6. Chan KA, Zhang J, Hui AB, Wong N, Lau TK, Leung TN, Lo YD. Size distributions of maternal and fetal DNA in maternal plasma. *Clinical chemistry*. 2004; 50(1): 88-92.
7. Canick JA, Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, Haddow JE. The impact of maternal plasma DNA fetal fraction on next generation sequencing tests for common fetal aneuploidies. *Prenatal diagnosis*. 2013; 33(7): 667-674.
8. Ashoor G, Syngelaki A, Poon LCY, Rezende JC, Nicolaides KH. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11–13 weeks' gestation: relation to maternal and fetal characteristics. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. 2013; 41(1): 26-32.
9. Lo YM, Tein MS, Lau TK, et al. Quantitative analysis of fetal DNA in maternal plasma and serum: implications for noninvasive prenatal diagnosis. *Am J Hum Genet*. 1998; 62:768.
10. Nicolaides KH, Syngelaki A, del Mar Gil M, et al. Prenatal detection of fetal triploidy from cell-free DNA testing in maternal blood. *Fetal Diagn Ther*. 2014; 35:212.
11. Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, et al. Circulating cell free DNA testing: are some test failures informative? *Prenat Diagn*. 2015; 35:289.

12. Benn P. Non-invasive prenatal testing using cell free DNA in maternal plasma: recent developments and future prospects. *Journal of clinical medicine*. 2014; 3(2): 537-565.
13. Hyett JA, Gardiner G, Stojilkovic-Mikic T, et al. Reduction in diagnostic and therapeutic interventions by non-invasive determination of fetal sex in early pregnancy. *Prenat Diagn*. 2005; 25(12):1111–1116.
14. Rafi I, Chitty L. Cell-free fetal DNA and non-invasive prenatal diagnosis. *Br J Gen Pract*. 2009; 59(562):146-148.
15. Van der Schoot CE, Hayn S, Chitty LS. Non-invasive prenatal diagnosis and determination of fetal Rh status. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2008;13(2):63–68.
16. Traeger-Synodinos J. Real-time PCR for prenatal and preimplantation genetic diagnosis of monogenic diseases. *Molecular Aspects of Medicine*. 2006; 27 (2-3): 176-191.
17. Bustamante-Aragones A, Gonzalez-Gonzalez C, de Alba MR, Ainse E, Ramos C. Noninvasive prenatal diagnosis using cffDNA in maternal blood: state of the art. *Expert Review of Molecular Diagnostics*. 2010; 10 (2): 197-205.
18. Wataganara T, et al. Maternal serum cell-free fetal DNA levels are increased in cases of trisomy 13 but not trisomy 18. *Human Genetics*. 2003; 112 (2): 204-208.
19. Lo YMD, Leung TN, Tein MSC, Sargent IL, Zhang J, Lau TK, et al. Quantitative abnormalities of fetal DNA in maternal serum in pre-eclampsia. *Clin Chem*. 1999; 45:184-188.
20. Leung TN, Zhang J, Lau TK, Chan LY, Lo YM. Increased maternal plasma fetal DNA concentrations in women who eventually develop preeclampsia. *Clinical Chemistry*. 2001; 47 (1): 137-139.
21. Vasilescu S, Vartej P, Dumitrascu M, Voicu D, Bodean O, Popovici L, Cîrstoiu MM. Utilizarea testelor prenatale neinvazive în evaluarea riscului de aneuploidii fetale în sarcina gemelară cu un embrion oprit în evoluție în trimestrul I. *Ginecologia*. ro. 2017. 5(16): 16-19.
22. Wang K, Zhang J, Yu H. Non-Invasive Prenatal Diagnosis in Twin Pregnancies: Current Status. *Obstet Gynecol Int J*. 2016; 4(5): 00126.
23. Struble CA, Syngelaki A, Oliphant A, Song K, Nicolaides KH. Fetal fraction estimate in twin pregnancies using directed cell-free DNA analysis. *Fetal diagnosis and therapy*. 2014; 35(3): 199-203.

24. Le Conte G, Letourneau A, Jani J, Kleinfinger P, Lohmann L, Costa JM, Benachi A. Cell-free fetal DNA analysis in maternal plasma as a screening test for trisomy 21, 18 and 13 in twin pregnancies. *Ultrasound*. 2017.
25. Pan PD, Peter I, Lambert-Messerlian GM, Canick JA, Bianchi DW, Johnson KL. Cell-free fetal DNA levels in pregnancies conceived by IVF. *Human reproduction*. 2005; 20(11): 3152-3156.
26. Lee TJ, Rolnik DL, Menezes MA, McLennan AC, da Silva Costa F. Cell-free fetal DNA testing in singleton IVF conceptions. *Human Reproduction*. 2018; 33(4): 572-578.
27. Hui L. Noninvasive prenatal testing for aneuploidy using cell-free DNA—New implications for maternal health. *Obstetric medicine*. 2016; 9(4): 148-152.
28. Grömminger S, Erkan S, Schöck U, et al. The influence of low molecular weight heparin medication on plasma DNA in pregnant women. *Prenat Diagn*. 2015; 35: 1155–1157.
29. Neufeld-Kaiser CEY, Liu YJ, et al. Positive predictive value of non-invasive prenatal screening for fetal chromosome disorders using cell-free DNA in maternal serum: independent clinical experience of a tertiary referral center. 2015; 13(1):129.
30. Zhou Y, Zhu Z, Gao Y, Yuan Y, Guo Y, Zhou L, Chen Z. Effects of maternal and fetal characteristics on cell-free fetal DNA fraction in maternal plasma. *Reproductive Sciences*. 2015; 22(11): 1429-1435.
31. Ashoor G, Poon L, Syngelaki A, et al. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11-13 weeks' gestation: effect of maternal and fetal factors. *Fetal Diagn Ther*. 2012; 31:237.
32. Bianchi DW, Chudova D, Sehnert AJ, Bhatt S, Murray K, Prosen TL, Goldberg J. Noninvasive prenatal testing and incidental detection of occult maternal malignancies. *Jama*. 2015; 314(2): 162-169.
33. Taglauer ES, Wilkins-Haug L, Bianchi DW. Cell-free fetal DNA in the maternal circulation as an indication of placental health and disease. *Placenta*. 2014; 35: 64-68.
34. **Vasilescu S, Munteanu O, Radu G et al. Non-invasive prenatal testing - a new method in improving first trimester screening for chromosome-related abnormalities. Romanian Society of Ultrasonography in Obstetrics and Gynecology. 2016; (12/45): 146-150.**

35. Behjati S, Tarpey PS. What is next generation sequencing? Archives of Disease in Childhood. Education and Practice Edition. 2013; 98(6): 236–238.
36. Van den Veyver IB. Recent advances in prenatal genetic screening and testing. 2016; 5.
37. Wieacker P, Steinhard J. The prenatal diagnosis of genetic diseases. Deutsches Aerzteblatt International. 2010; 107(48): 857.
38. Hooke E. Rates of chromosome abnormalities at different maternal ages. Obstet Gynecol. 1981; 58:282–285.
39. Murken J. Pränatale Diagnostik. In: Murken J, Grimm T, Holinski-Feder E, editors. Humangenetik. 7th edition. Stuttgart: Thieme Verlag; 2006; 386–411.

## Lista lucrărilor științifice publicate

- Meca CD, **Vasilescu LS**, Munteanu O, Șerban B, Ursu C, Marinescu NA, Dincă V, Cîrstoiu FC, Cîrstoiu MM. Managementul durerii în tumorile genito-mamare cu metastaze osoase. Revista Durerea, Vol. XXVIII, Nr. 3 Iulie-Septembrie 2017
- **Vasilescu LS**, Meca CD, Șerban B, Georgescu AT, Ursu C, Cîrstoiu FC, Cîrstoiu MM. Vertebral metastasis in choriocarcinoma following term pregnancy - a case report. Proceedings of the First National Conference of Romanian Society of the Musculoskeletal Oncology; ROMSOS 13-15 April 2018 SINAIA
- Grădinaru-Fometescu D, **Vasilescu LS**, Meca CD, Munteanu O, Baros A, Georgescu AT, Dumitru AV, Șerban B, Sajin M, Cîrstoiu MM. Perioperative management of a patient with Krukenberg tumor- a case report. Revista Ginecologia.ro Anul V • Nr. 17 (3/2017); <http://www.revistaginecologia.ro/index.php/arhiv/213>
- **Vasilescu LS**, Voicu D, Bodean O, Munteanu O, Meca CD, Bohîlțea R, Cîrstoiu M. Durerea în boala inflamatorie pelvină acută. Revista Asociației Romane pentru Studiul Durerii, Vol. XXVII, Nr.2 Aprilie-Iunie 2017
- Cîrstoiu M, Arsene L, Voicu D, Munteanu O, Bodean O, **Vasilescu S**, Grădinaru-Fometescu D. Management of a high-risk pregnancy with a severe form of bladder infiltrating endometriosis. Case report and literature review. Gineco.eu, Vol. 13 • No. 49 (3/2017); [DOI:10.18643/gie.u.2017.104](https://doi.org/10.18643/gie.u.2017.104)
- Grădinaru-Fometescu D, Voicu D, Munteanu O, Bodean O, **Vasilescu S**, Brătîlă P, Cîrstoiu M. Management of a high-risk pregnancy after cervical amputation. A case report. Gineco. Eu, Vol. 13 • No. 49 (3/2017); [DOI:10.18643/gie.u.2017.111](https://doi.org/10.18643/gie.u.2017.111)
- **Vasilescu LS**, Vârtej P, Dumitrașcu M, Voicu DI, Bodean OM, Popovici L, Bohîlțea R, Munteanu O, Cîrstoiu MM. The use of non-invasive prenatal test in screening for fetal aneuploidies in twin pregnancies with an embryo stopped growing in the first trimester. Revista Ginecologia.ro, Anul V • Nr. 16 (2/2017); [DOI:10.18643/gie.u.2016.146](https://doi.org/10.18643/gie.u.2016.146)
- Nenciu CG, Afloarea AE, Albu RA, Voicu D, Munteanu O, **Vasilescu S**, Șandru F, Dumitrașcu MC. Female sexual dysfunction and pelvic floor surgery. The 13th National Congress of Urogynecology, Proceedings of Urogyn 2016

- **Vasilescu S**, Munteanu O, Radu G, Voicu D, Dumitraşcu M, Vârtej P, Bohîlţea R, Vlădăreanu S, Cîrstoiu M. Non-invasive prenatal testing - a new method in improving first trimester screening for chromosome-related abnormalities. Gineco.eu Vol. 12 Nr. 45 (3/2016); DOI:10.18643/gie.u.2016.146
- Bohîlţea E, Ţurcan N, Munteanu O, Baroş A, Bodean O, Voicu D, **Vasilescu S**, Cîrstoiu M. Manifestations of chronic venous disease of the pelvis in pregnancy. Gineco.eu Vol. 12 • No. 45 (3/2016); [DOI:10.18643/gie.u.2016.151](https://doi.org/10.18643/gie.u.2016.151)