

Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca

TEZĂ DE DOCTORAT

-REZUMAT-

**PROBLEME ACTUALE ALE DIAGNOSTICULUI PRENATAL
AL SINDROAMELOR CROMOSOMIALE**

**Conducător științific:
Prof. Univ. Dr. Stamatian Florin**

**Autor:
Pop George Victor**

-2009-

CUPRINS

I. Partea de sinteză bibliografică.....	2
1. INTRODUCERE.....	2
2. OBIECTIVE.....	2
3. FRECVENȚA ANOMALIILOR CROMOSOMIALE.....	2
4. ETIOLOGIA ȘI PATOGENEZA ANOMALIILOR CROMOSOMIALE.....	2
5. PROFILAXIA ANOMALIILOR CROMOSOMIALE.....	2
6. DIAGNOSTICUL PRENATAL AL ANOMALIILOR CROMOSOMIALE.....	3
II. Partea de contribuții personale.....	3
7. MATERIAL ȘI METODĂ.....	3
-7.1. Criterii de includere a gravidelor în lotul cu risc genetic pentru produsul de concepție.....	3
-7.2. Consultul genetic prenatal.....	3
-7.3. Tehnici de analiză cromosomală.....	3
-7.4. Protocolul de lucru în efectuarea diagnosticului citogenetic prenatal din celulele fetale.....	3
-7.5. Sfatul genetic prenatal.....	3
-7.6. Metodologia de prelucrare statistică a rezultatelor.....	3
-8. PREZENTAREA LOTULUI DE STUDIU.....	4
-9. REZULTATE SI DISCUȚII.....	4
-9.1. Tipurile de anomalii cromosomiale depistate prin testare citogenetica prenatală.....	4
-9.2. Aneuploidiile autosomale depistate prin testare citogenetica prenatală.....	4
-9.3. Aneuploidii heterosomale depistate prin testare citogenetica prenatală.....	4
-9.4. Anomalii genomice depistate prin testare citogenetica prenatală.....	4
-9.5. Anomalii cromosomiale structurale depistate prin testare citogenetica prenatală.....	6
-9.6. Distribuția pe sex citogenetic a cazurilor cu anomalii cromosomiale.....	6
-9.7. Distribuția aneuploidii omogene-mozaicisme cromosomiale.....	6
-9.8. Distribuția în funcție de criteriile de includere în lotul de studiu.....	6
-9.9. Analiza eficienței testării citogenetice pe intervalul 2002-2008.....	6
-10. CONCLUZII.....	8
-11. REFERINȚE BIBLIOGRAFICE.....	9
-12. ANEXE LA PARTEA DE CONTRIBUTII PERSONALE: Lotul de studiu prezentat pe anii din intervalul 2002-2008, Cazurile cu anomalii cromosomiale depistate în anii 2002-2008, Lista tabelor și figurilor, Lista lucrărilor din tematica tezei de doctorat publicate în extenso, Lista lucrărilor din tematica tezei de doctorat publicate în rezumat, Lucrările din tematica tezei de doctorat publicate în extenso – anexate în copie	

Cuvinte cheie: sarcină cu risc genetic, diagnostic citogenetic prenatal, screening prenatal, anomalii cromosomiale numerice, anomalii cromosomiale structurale, anomalii genomice, aneuploidii omogene, mozaicisme cromosomiale, trisomii autosomale, trisomii heterosomale, trisomie 21, trisomie 18, trisomie 13, trisomie X, trisomie heterosomală XXY, monosomie X, sindrom Down, sindrom Edwards, sindrom Patau, sindrom Turner, sindrom Klinefeler, vârsta gestațională avansată, screening ecografic pentru malformații fetale, istoric familial pozitiv de anomalii cromosomiale, avort spontan recurent, testare citogenetică, analiză cromosomală, consiliere genetică, consimțământ informat, consult genetic, sfat genetic.

I. Partea de sinteză bibliografică

-1. INTRODUCERE

Frecvența generală a sindroamelor cromosomiale este de aproximativ 0,9% (1 la 160), iar a tuturor malformațiilor congenitale de circa 2%, în cazul copiilor născuți vii. Această realitate a dus la conștientizarea faptului că sindroamele cromosomiale și malformațiile congenitale, datorită frecvenței lor în populație, reprezintă o problemă de sănătate publică, deoarece au o incidență globală mare (0,9% din nou-născuții vii), sunt grave, au caracter cronic, invalidant și pot fi prevenite, ceea ce a determinat elaborarea și standardizarea unor metode de diagnostic prenatal.

-2. OBIECTIVE

Obiectivele principale ale acestui studiu longitudinal prospectiv, derulat pe o perioadă de șapte ani, au fost depistarea prenatală a anomaliilor cromosomiale ale produșilor de concepție, evaluarea frecvenței anomaliilor cromosomiale în cadrul lotului cu risc genetic, profilaxia anomaliilor cromosomiale fetale, analiza aspectelor citogenetice ale anomaliilor cromosomiale depistate prenatal, identificarea unor corelații dintre indicațiile efectuării diagnosticului citogenetic prenatal și rezultatul analizei cromosomiale pe celule fetale, precum și o analiză retrospectivă a beneficiilor familiale și sociale a consultului genetic prenatal, a testării citogenetice prenatale și a acordării prenatale a sfatului genetic. Obiectivele secundare ale studiului au fost punerea la punct și standardizarea metodologiei de testare citogenetică prenatală, evaluarea eficienței analizei cromosomiale ca procedură de diagnostic.

-3. FRECVENȚA ANOMALIILOR CROMOSOMIALE

În multiple studii, efectuate în foarte multe țări, valorile raportate pentru frecvența anomaliilor cromosomiale diferă în funcție de perioada ontogenetică, de populația investigată și de metoda de investigare. Astfel, frecvențele medii ale anomaliilor cromosomiale, detectate cu ajutorul analizei citogenetice clasice, pentru cele trei perioade amintite înainte, sunt: -a) 10% pentru perioada preconcepțională (spermatozoizi și ovocite), dar se pare că frecvența este mai mare, deoarece datele disponibile reprezintă, în mod cert, subevaluări ale situației reale; -b) 3% în cazul produșilor de concepție cu vârsta de 10 săptămâni, acestea reprezentând cauza pentru 50-60% din avorturile spontane precoce și pentru 10% din nou născuți morți; -c) 0,7-1 % în cazul nou-născuților vii (> 1:120), dar cu tendință de creștere la 2% în cazul când vârsta gestațională este peste 35 de ani [3].

-4. ETIOPATOGENIA ANOMALIILOR CROMOSOMIALE

Sindroamele cromosomiale sunt consecința unor erori ce survin în diviziunea celulară, denumite anomalii cromosomiale. Aceste erori se pot produce prin următoarele trei mecanisme: -1) distribuția anormală a unuia sau mai multor seturi haploide de cromosomi, numite poliploidii, care generează un dezechilibru genetic letal pentru produsul de concepție; -2) distribuția anormală a unuia sau mai multor cromosomi, numite aneuploidii, care generează fie un dezechilibru genetic letal în cazul unor tipuri de anomalii, fie unul foarte grav în cazul altor tipuri de anomalii; -3) distribuția anormală a unui segment de cromosom, numite anomalii cromosomiale structurale, care numai uneori duc la un dezechilibru genetic, cu efecte mai blânde pentru purtător, iar alteori pot fi echilibrate, fără efecte vizibile pentru purtător, dar cu risc genetic pentru descendenți [3].

-5. PROFILAXIA ANOMALIILOR CROMOSOMIALE

Diagnosticul citogenetic prenatal, a intrat în practică în toate țările cu un nivel de viață ridicat, prin standardizarea analizei cromosomiale prin diverse metode. Conceptul de profilaxie a bolilor genetice, s-a impus și în medicina materno-fetală. Profilaxia bolilor genetice are următoarele patru mari componente: cunoașterea etiologiei bolii, evitarea factorilor de risc (genetici și ambientali), identificarea familiilor sau persoanelor cu risc genetic crescut și diagnosticul precoce al bolii la indivizii afectați [112].

-6. DIAGNOSTICUL PRENATAL AL ANOMALIILOR CROMOSOMIALE

Prin faptul că diagnosticul prenatal are ca și obiectiv, detectarea unei afecțiuni grave la un produs de concepție, acest act oferă o *valoroasă opțiune reproductivă* cuplurilor cu risc genetic crescut, care vor putea lua o decizie informată. Având în vedere că în majoritatea țărilor cu un standard ridicat de viață, problema calității generațiilor viitoare este abordată într-un mod realist și eficient, a fost posibilă elaborarea conceptului de planificare familială. Prin posibilitatea testării citogenetice prenatale, mai ales la cuplurile cu un risc genetic crescut, analiza cromosomală aduce beneficii familiale, sociale și medicale [190, 191].

II. Partea de contribuții personale

-7. MATERIALE SI METODE

-7.1. Criterii de includere a gravidelor în lotul cu risc genetic pentru produsul de concepție

Indicațiile pentru efectuarea diagnosticului citogenetic prenatal al anomaliilor cromosomiale sunt vârsta concepțională avansată a mamei, semnele ecografice de apel, rezultatele unui screening seric matern ce indică un risc crescut pentru defecte de dezvoltare, istoricul familial pozitiv și istoricul obstetrical pozitiv al gravidei pentru anomalii cromosomiale [123].

-7.2. Consultul genetic prenatal

Gravidelor sau cuplurilor cu risc genetic de anomalii cromosomiale pentru produsul de concepție li s-a efectuat consultul genetic, care trebuie să vizeze: evaluarea indicațiilor, anamneza (generală, personală, familială și gestațională), construirea arborelui genealogic, examenul obiectiv, coroborarea datelor cu cele provenite de la alți specialiști, stabilirea diagnosticului clinic, indicarea unui test genetic, consilierea pretestare și elaborarea diagnosticului etiologic [120].

-7.3. Tehnici de analiză cromosomală

Analiza citogenetică a fost efectuată prin tehnici care au permis: -a) obținerea cromosomilor uniform colorați, ceea ce a făcut posibilă identificarea și inventarierea lor, cu utilitate în diagnosticul citogenetic al aneuploidiilor și a mozaicismelor; -b) marcajul în benzi al cromosomilor metafazici în lungul cromatidelor, cu o succesiune și dimensiuni absolut specifice pentru fiecare cromosom, ceea ce le conferă valoare practică în diagnosticul anomaliilor structurale mai mari de 4×10^6 pb [196].

-7.4. Protocolul de lucru în efectuarea diagnosticului citogenetic prenatal pe celulele fetale

Celulele fetale, prelevate prin amniocenteză în săptămânile 14-20 de sarcină, au fost cultivate, timp de circa 10 zile la 37°C, pH 7,3 în atmosferă cu 5% CO₂ pe medii nutritive (HAM F10 și amniochrome) adaptate și suplimentate cu un complement nutritiv specific pentru cultura celulelor amniotice. Analiza cromosomilor a fost efectuată pe imagini captate cu o camera video, pe 8 mitoze provenite din clone celulare diferite, cu obiectivul de 100x – cu imersie [228].

-7.5. Sfatul genetic prenatal

Sfatul genetic s-a acordat pentru fiecare gravidă/cuplu, care au solicitat diagnostic prenatal, în vederea luării unei decizii reproductive. Dacă rezultatul a fost negativ, s-a subliniat semnificația de produs de concepție neafectat fără a pierde din vedere posibilitatea unor rezultate fals negative. În situația unui rezultat pozitiv, sfatul genetic a fost oferit cu multă atenție, precizând solicitanților: riscul de recurență, posibilitatea unui rezultat fals pozitiv, manifestarea clinică, prognosticul, existența sau neexistența unor posibilități de tratament și procedurile alternative de confirmare/infirmare a rezultatului testării genetice prenatale [235, 237].

-7.6. Metodologia de prelucrare statistică a rezultatelor

Rezultatele testării citogenetice au fost prelucrate statistic cu programul Microsoft EXCEL pentru evaluarea semnificației, atât în cadrul lotului de studiu: distribuția cazurilor pe subploturi. De asemenea, au fost evaluate ponderea criteriilor de includere în lotul de studiu, prin analiză univariată și metode multivariate cum ar fi regresia logistică și analiza discriminantă, pe un lot de 1.007 gravide [241].

-8. PREZENTAREA CAZURILOR DIN LOTUL DE STUDIU

Studiul a fost derulat pe intervalul 01.04.2002-31.12.2008, timp în care a fost efectuată efectiv testarea genetică prenatală pe 932 de cazuri. Datele generale referitoare la numărul de cazuri luate în studiu pe ani calendaristici (subloturi de studiu) pentru efectuarea testării genetice prenatale și la numărul de cazuri pierdute prin infectarea culturilor de celule fetale, respectiv numărul de subiecți pentru care a fost finalizată testarea, cu rezultate negativ sau pozitiv sunt cuprinse în tabelul de mai jos.

An	Cazuri incluse în lotul de studiu		Testări citogenetice reușite		
	Culturi testate genetic	Culturi celulare ratate	Total	rezultat negativ	rezultat pozitiv
2002	21	10	11	9	2
2003	71	10	61	56	5
2004	141	21	120	113	7
2005	120	11	109	94	15
2006	134	3	131	123	8
2007	258	6	252	235	17
2008	262	14	248	227	21
Total	1.007	75	932	857	75

-9. REZULTATE SI DISCUȚII

-9.1. Tipurile de anomalii cromosomiale depistate prin testare citogenetică prenatală

Distribuția anomaliilor cromosomiale relevă că tipul cel mai frecvent este reprezentat de aneuploidiile autosomale, care reprezintă 3/5 din total, respectiv 59%, pe când celelalte tipuri reprezintă împreună 2/5 din total (41%), dintre care anomaliile heterosomale-17%, anomaliile genomice-5% și anomaliile structurale-19% (Fig. 82) [246]. Această variație multianuală este cuprinsă între următoarele limite: -a) aneuploidiile autosomale între 15% și 76%, față de valoarea medie de 59%; -b) aneuploidiile heterosomale între 0 și 40%, față de valoarea medie de 17%; -c) anomaliile genomice între 0 și 25%, față de valoarea medie de 5%; -d) anomaliile structurale între 0 și 57%, față de valoarea medie de 19%.

-9.2. Aneuploidiile autosomale depistate prin testare citogenetică prenatală

Studiul nostru a relevat că ponderea aneuploidiilor autosomale a fost de circa 3/5 din totalul anomaliilor cromosomiale. În acest grup a fost depistată următoarea distribuție pe diverse anomalii cromosomiale (Fig. 90): trisomia 21 – 56,82%; trisomia 18 – 25%; trisomia 13 – 4,54%; aneuploidii autosomale rare – 13,64% [191, 249, 250, 253, 262, 287].

-9.3. Aneuploidiile heterosomale depistate prin testare citogenetică prenatală

Pe parcursul studiului, au fost depistate 75 de cazuri adevărat-pozitive de anomalii cromosomiale, dintre care 13 cazuri au prezentat aneuploidii heterosomale (Fig. 82), care au o pondere de 17,33%. În grupul aneuploidiilor heterosomale, s-a constatat următoarea distribuție pe diverse anomalii cromosomiale (Fig. 96): -a) monosomia X – 6 cazuri (46,15%); -b) trisomia heterosomală XXY – 4 cazuri (30,77%); -c) trisomia heterosomală XXX – 3 cazuri (23,08%) [295].

-9.4. Anomalii genomice depistate prin testare citogenetică prenatală

Anomaliile genomice sunt cauza a circa 1/5 din avorturile spontane, datorită severității defectelor de dezvoltare. Pe parcursul studiului, au fost depistate prin testare citogenetică prenatală, 4 cazuri, cu un raport față de cele din lotul cu test genetic pozitiv de 0,05, care reprezintă 5,33% din cele 75 de cazuri cu anomalii cromosomiale fetale. În cazurile cu anomalii genomice produșii de concepție se elimină în 99,9% din cazuri [311]. Dintre cele 4 cazuri, 3 au prezentat triploidie omogenă, iar celălalt tetraploidie în mozaic-cu prezența unei linii celulare euploide de sex citogenetic XX, respectiv a unei linii tetraploidie (Fig. 97), ce a inclus perechile de gonozomi XX/XY.

Fig. 82. Distribuția pe tipuri de aneuploidii pe anii 2002-2008

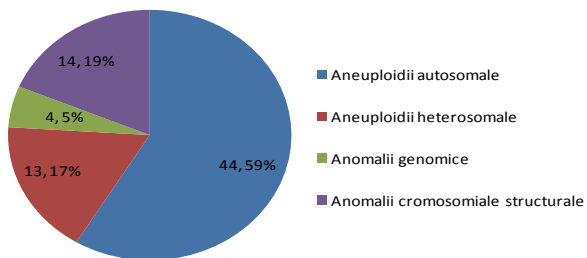


Fig. 90. Distribuția aneuploidiilor autosomale diagnosticate în intervalul 2002-2008

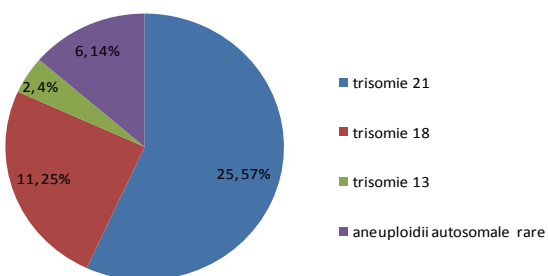


Fig. 96. Distribuția aneuploidiilor heterosomale în intervalul 2002-2008

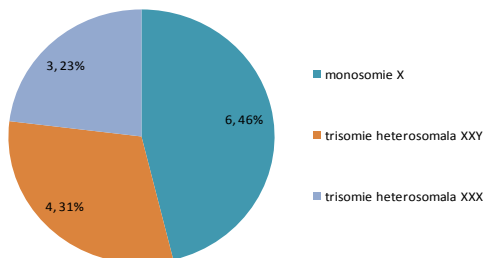
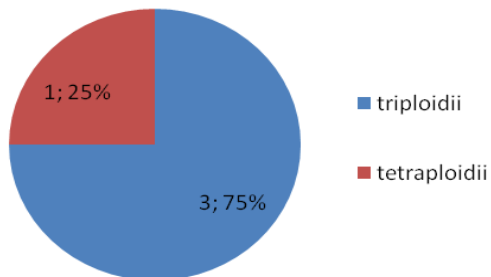


Fig. 97. Distribuția anomaliilor genomice pe întreaga durata a studiului



-9.5. Anomaliile cromosomiale structurale depistate prin testare citogenetică prenatală

Anomaliile structurale sunt foarte diverse, cu efect fenotipic diferit, în funcție de tipul rearanjamentului cromosomal. Studiul prospectiv, derulat pe o perioadă de 7 ani a depistat 75 de cazuri de anomalii cromosomiale, dintre care 14 (18,66%) au fost anomalii cromosomiale structurale (Fig. 98).

Prin diversitatea lor, prin efectele fenotipice diferite, uneori foarte severe, alteori foarte blânde, dar mai ales prin dificultatea diagnosticului, aceste anomalii structurale, sunt frecvent subdiagnosticate. În grupul anomaliilor structurale au fost incluse următoarele categorii de rearanjamente cromosomiale (Fig. 98): -a) cromosomii marker – 5 cazuri (35,71%); -b) deletii cromosomiale – 4 cazuri (28,57%); -c) translocății cromosomiale – 3 cazuri (21,43%); -d) anomalii structurale rare – 2 cazuri (14,29%) [109].

-9.6. Distribuția pe sex citogenetic a cazurilor cu anomalii cromosomiale

În intervalul 2002-2008 în lotul de studiu au fost depistate 75 de cazuri cu diverse anomalii cromosomiale, pentru care raportul M/F este de 1,27 (42:33 sau 56%-44%, respectiv 1:0,79), dar dacă se ia în considerare particularitatea unuia dintre cazuri, care este o tetrasomie în mozaic 46,XX/92,XXXXY, ce prezintă heterosomie atât pentru sexul feminin cât și pentru sexul masculin, raportul se ajustează la 41:33, respectiv 1:0,8 (Fig. 99) [250].

-9.7. Distribuția aneplloidii omogene-mozaicisms cromosomiale

Diferența de exprimare fenotipică, are importanță în diagnosticul formelor omogene, care sunt mult mai severe, față de mozaicisms, care au o exprimare fenotipică variabilă, în funcție de gradul de mozaicism și țesutul/țesuturile în care există clonele celulare mutante.

Analizând cele 75 de cazuri de anomalii cromosomiale detectate în cei 7 ani pe care s-a derulat studiul, s-a constatat că raportul dintre anomaliile omogene și cele cu mozaicism cromosomal este 58:17 (77%:23%), respectiv 1:0,23 (Fig. 108) [325].

-9.8. Distribuția în funcție de criteriile de includere în lotul de studiu

După analiza prin prelucrare statistică, cu programul Microsoft EXCEL, a ponderii globale pe cei 7 ani ai studiului (Fig. 111), pentru fiecare criteriu de includere sau pentru combinații de criterii, s-au observat următoarele aspecte distincte: -a) ponderea individuală a fiecărui criteriu scade în sensul SSM>VG>SEA>AP+>IF+; -b) criteriile combinate au o pondere de 40%; -c) în cazurile pozitive asocierea a două/trei criterii are o pondere de 57,89%, respectiv 42,11%; -d) în cazurile pozitive, distribuția combinațiilor de două criterii (v. Anexa 12.2) este vârstă gestațională avansată-screening seric matern (54,55%), vârstă gestațională avansată-semne de apel ecografic (18,18%), semne de apel ecografic-screening seric matern (18,18%), screening seric matern-istoric parental pozitiv (9,09%) [249].

-9.9. Analiza eficienței testării citogenetice pe intervalul 2002-2008

Testarea citogenetică a fost efectuată ca un studiu prospectiv longitudinal derulat pe o perioadă de 81 de luni, în intervalul 01.04.2002-31.12.2008. În lotul de studiu au fost incluse 1.007 gravide cu risc genetic pentru produsul de concepție, pe baza a șase criterii de includere bine stabilite, dar testarea genetică a fost efectuată pe 932 de cazuri, deoarece în fiecare an o parte din teste au fost ratate prin nereușita efectuării culturilor celulare (Tabelul 27) [237, 333].

Lotul de studiu a fost organizat pe șapte subploturi, anuale, iar numărul de cazuri incluse a crescut din anul 2002 până în 2008 de circa 12,5 ori. Analitic, creșterea a fost triplată din 2002 în 2003, apoi dublată din 2003 în 2004, după care cazurile incluse în anii 2005 și 2006 au avut o pondere similară cu cele din 2004. În anii 2007 și 2008 s-a produs o nouă dublare a cazurilor incluse, față de perioada 2004-2006 (Fig. 113). Efectuând scăderea cazurilor pentru care culturile de celule fetale au fost ratate, dinamica celor la care testarea citogenetică a reușit are o tendință similară.

Fig. 98. Distribuția formelor de anomalii structurale pe întreaga durată a studiului

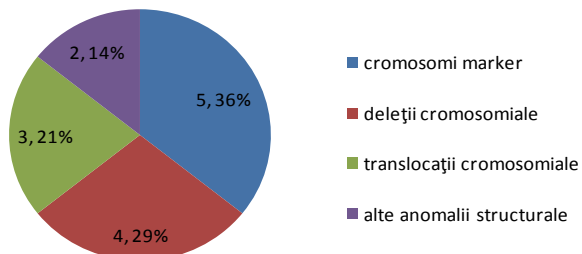


Fig. 99. Distribuția anomaliilor cromosomiale pe sex citogenetic pe intervalul 2002-2008

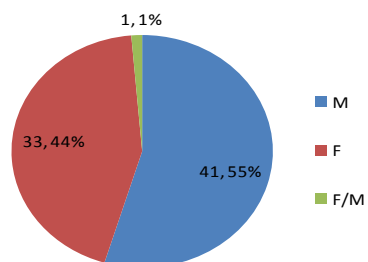


Fig. 108. Distribuția formelor omogene și în mozaic ale anomaliilor cromosomiale pe intervalul 2002-2008

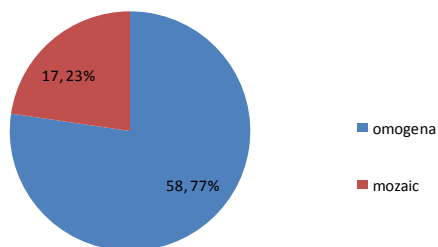
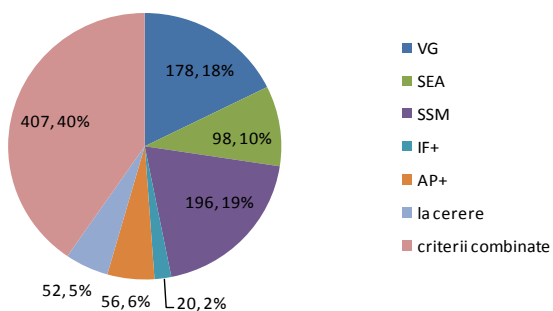
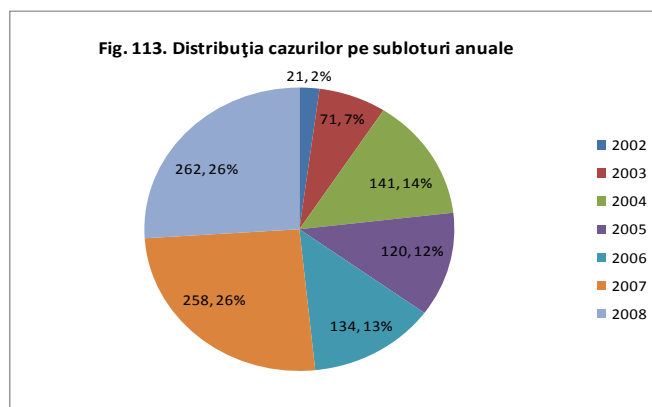


Fig. 111. Distribuția criteriilor de includere



VG-vârsta gestațională SEA-semne ecografice de apel SSM-screening seric matern
 IF+-istoric familial pozitiv AP+-antecedente parentale pozitive



-10. CONCLUZII

-1. Studiul prezent, a fost derulat pe un interval de 7 ani, pe un lot de 1.007 gravide cu risc genetic pentru produsul de concepție, din care 932 de cazuri au fost testate citogenetic pentru depistarea anomaliilor cromosomiale, în scop diagnostic și profilactic.

-2. Din cele 932 de cazuri testate citogenetic, în 857 (91,95%) rezultatul a fost negativ, iar în 75 cazuri (8,05%) a fost pozitiv, ceea ce a avut importanță asupra deciziei reproductive a cuplurilor.

-3. Distribuția anomaliilor cromosomiale, relevă că tipul cel mai frecvent depistat prin testare citogenetică este reprezentat de aneuploidiile autosomale, care reprezintă 3/5 din total (59%), pe când celelalte trei tipuri de anomalii reprezintă împreună 2/5 din total (41%), după cum urmează: anomaliile heterosomale – 17%, anomaliile genomice – 5,33% și anomaliile structurale -19%.

-4. În cadrul aneuploidiilor autosomale, trisomia 21 a prezentat o pondere de 56,82%, trisomia 18 - 25%, trisomia 13 - 4,54% și aneuploidiile autosomale rare - 13,64%.

-5. În cadrul aneuploidiilor heterosomale, ponderile au fost de 46,15% pentru monosomia X, 30,77% pentru trisomia heterosomală XXY și 23,08% pentru trisomia heterosomală XXX.

-6. În cadrul anomaliilor cromosomiale structurale ponderea a fost de 35,71% pentru cromosomii marker, 28,57% pentru delețiile cromosomiale, 21,43% pentru translocațiile cromosomiale și 14,29% pentru anomaliile structurale rare.

-7. În grupul aneuploidiilor autosomale, sex ratio M/F a fost de 1,08 (13:12 sau 52%:48%, respectiv 1:0,92) pentru trisomia 21 și de 0,83 (5:6 sau 45%:55%, respectiv 1:1,2) pentru trisomia 18.

-8. Raportul anomalii omogene-mozaicism cromosomal a fost de 3,41 (58:17 sau 77%:23%, respectiv 1:0,23), raportul forme omogene-mozaicisme pe sex citogenetic XY/XX a fost de 1,64 (36:22 sau 62%:38%, respectiv 1:0,61), în timp ce la formele în mozaic a fost inversat, având o valoare de 0,45 (5:11 sau 29%:65%, respectiv 1:2,2).

-9. Analiza prin prelucrare statistică-Microsoft EXCEL, a ponderii globale, pentru criteriile de includere sau pentru combinații ale acestora, a relevat următoarele:

-ponderea individuală a fiecărui criteriu scade în sensul SSM>VG>SEA>AP+>IF+;

-criteriile combinate au o pondere de 40%;

-în cazurile pozitive asocierea a 2-3 criterii are o pondere de 57,89%, respectiv 42,11%;

-în cazurile pozitive, distribuția combinațiilor de 2 criterii este vârstă gestațională avansată-screening seric matern (54,6%), vârstă gestațională avansată-semne de apel ecografic (18,2%), semne de apel ecografic-screening seric matern (18,2%), screening seric matern-istoric parental pozitiv (9,0%).

-10. Aspectul cel mai important al eficienței testării genetice a constat în acordarea consilierii genetice în vederea stabilirii de către cuplu a opțiunii reproductive. În toate cele 1007 cazuri a fost acordată consilierea genetică pretestare, iar în cele 75 cazuri cu anomalii cromosomiale fetale s-a acordat și consilierea genetică posttestare. Decizia de a păstra sau nu un produs de concepție cu anomalii cromosomiale a aparținut cuplului.

11. REFERINȚE BIBLIOGRAFICE SELECTIVE

- 3. Bond DJ and Chandley AC - Aneuploidy - *Oxford Monographs on Medical Genetics*, No. 11. Oxford University Press, Oxford, UK, **1983**, pp198.
- 109. Bartsch O, Loitzsch A, Kozłowski P, Mazauric ML, Hickmann G - Forty-two supernumerary marker chromosomes (SMCs) in 43,273 prenatal samples: chromosomal distribution, clinical findings, and UPD studies - *Eur J Hum Genet* **2005**,13(11):1192-1204.
- 112. Bubb JA, Matthews AL - What's new in prenatal screening and diagnosis? - *Prim Care* **2004**, 31(3):561-582.
- 120. Bennett RL – The practical guide to the genetic family history – Wiley-Liss, NY, **1999**.
- 123. Aitken DA, Crossley JA, Spencer K - Prenatal screening for neural tube defects and aneuploidy - *Principles and Practice of Medical Genetics*. Ed. DL Remoin, JM Connor, RE Pyeritz, BR Korf, 4-th E, Churchill Livingstone, London, Edinburgh, **2002**, p. 763-1401.
- 190. ***ACOG Committee on Practice Bulletins - ACOG Practice Bulletin No. 77: Screening for fetal chromosomal abnormalities - *Obstet Gynecol* **2007**, 109(1):217-228.
- 191. ***Orphanet – bază de date pentru boli genetice: <http://orphanet.infobiogen.fr>
- 196. ***Prenatal diagnosis – Methods and Indications: <http://omni.ac.uk/browse/mesh/detail/C0033053L0033053.html#1>
- 228. Richardson A – Analysis of Cytogenetic Abnormalities, part I, Chromosome analysis – in *The ACT Cytogenetics Laboratory Manual*, 2-nd edit, Barch MJ (ed), Raven Press, New York, **1991**, p. 329-382.
- 235. Quadrelli R, Quadrelli A, Mechoso B, Laufer M, Jaumandreu C, Vaglio A - Parental decisions to abort or continue a pregnancy following prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities in a setting where termination of pregnancy is not le-
- 237. **Pop GV**, Militaru M, Popp R, Stamatian F - Aspectele moderne ale programelor de screening prenatal al anomaliilor cromosomiale - *Clujul Medical* **2007**, 80(2):259-264, ISSN 1222-2119.
- 241. Altman DG – Practical statistics for medical research – London, Chapman and Hall, **1990**, p. 485-517. -6-9. Alfí OS, Chang R, Azenn SP – Evidence of genetic control of nondisjunction in man - *Am J Hum Genet* **1980**, 32:477-483.
- 246. Militaru MS, Popp RA, Trifa AP, **Pop GV**, Atasié D, Stamatian F - Studiul cromosomilor fetalii din lichidul amniotic în centrul universitar Cluj - Simpozionul *Tehnici de reproducere umană asistată - actualități*, Sibiu 16-17 noiembrie **2007**, p.9, ISSN 1221-2873.
- 249. Durkovic J, Andjelic L, Petricevic M, Nikodijevic AM, Matkovic EE - Chromosome Aberration in Spontaneous and Induced Abortions in the First Three-Month Period of Pregnancy – *Journal of Women's Health* www.liebertpub.com/jwh
- 250. Lebedev IN, Ostroverkhova NV, Nikitina TV, Sukhanova NN, Nazarenko SA - Features of chromosomal abnormalities in spontaneous abortion cell culture failures detected by interphase FISH analysis - *European Journal of Human Genetics* **2004**, 12, 513–520.
- 253. Vorsanova SG, Kolotii AD, Iourov IY, Monakhov VV, Kirillova EA, Soloviev IV, Yurov YB - Evidence for High Frequency of Chromosomal Mosaicism in Spontaneous Abortions Revealed by Interphase FISH Analysis - *J Histochem Cytochem*, **2005**, 53 (3):375-380.
- 262. **Pop GV**, Militaru M, Kovacs T, Stamatian F - Aspecte citogenetice ale sindromului Down depistat prenatal - *Clujul Medical* **2009**, 82(1):83-85, ISSN 1222-2119.
- 287. **Pop GV**, Militaru M, Kovacs T, Stamatian F - Trisomie 16 în mozaic depistată prenatal: prezentare de caz - *Obstetrica si Ginecologia* **2007**, 55(3):187-192, ISSN 1220-5532.
- 295. Guttenbach M, Koschorz B, Bernthaler U, Grimm T and Schmid M - Sex chromosome loss and aging: in situ hybridization studies on human interphase nuclei - *Am J Hum Genet* **1995**, 57:1143–1150.
- 311. Inoue K and Lupski JR - Molecular mechanisms for genomic disorders - *Annu Rev Genomics Hum Genet* **2002**, 3:199-242.
- 333. **Pop GV**, Kovacs T, Militaru M, Stamatian F - Eficiența depistării prenatale a anomaliilor cromosomiale în trimestrul II de sarcină - *Obstetrica si Ginecologia* **2007**, 55(2):105-108, ISSN 1220-5532.

Curriculum vitae

1. Date personale

- Nume: **POP**
- Prenume: **George-Victor**
- Data nașterii: 21.08.1977
- Locul nașterii: Cluj-Napoca
- Starea civilă: căsătorit cu Oana Pop-Marina

2. Studii

- 1991-1995: Liceul “George Barițiu” Cluj-Napoca
 - Diploma de Bacalaureat seria N, nr. 011417 / 352 / 16.08.1995)
- 1996-2002: Facultatea de Medicină, U.M.F. Cluj-Napoca
 - Diploma de Licență seria U, nr. 0049111 / 774 / 26.02. 2003

3. Activitate profesională

- 15.04.2003-15.10.2003: Medic stagiar - Spitalul Clinic Județean de Urgență Cluj, Clinica Chirurgie II
- 16.10.2003-16.04.2003: Medic stagiar - Spitalul Clinic Județean de Urgență Cluj, Clinica Medicală I
- 2003 - Concurs Rezidențiat - admis cu punctaj maxim
- 01.01.2004 - 31.12.2008: Rezident Obstetrică-Ginecologie - în afara normei de bază
- 01.01.2009 - 30.10.2009: Rezident Obstetrică-Ginecologie - cu normă de bază
- 2008 - sesiunea noiembrie - medic specialist obstetrica-ginecologie
- 2009 - medic rezident chirurgie generala – an I

4. Activitate științifică

- 01.11.2003-31.10.2009 - doctorand cu frecvență -U.M.F. Cluj-Napoca, Catedra de Obstetrică-Ginecologie I
 - Titlul tezei - “Probleme actuale ale diagnosticului prenatal al sindroamelor cromosomiale”
 - Conducător științific – Prof. Dr. Florin Stamatian
- participarea la 26 manifestări științifice (naționale, internaționale sau regionale) creditate EMC
- autor sau coautor la 6 lucrări publicate în rezumat în volumele unor manifestări științifice
- prim autor la 4 lucrări publicate în extenso în reviste cotate CNCSIS B+
- participare la trei proiecte de cercetare (2-CEEX și unul CNCSIS), în intervalul 2006-2008, ca membru al echipei de cercetare.

5. Membru al societăților științifice de profil:

- Societatea Română de Genetică Medicală: 2005-prezent

6. Limbi străine

- engleză (vorbit, citit, scris) – foarte bine
- franceză (vorbit, citit, scris) – satisfăcător

28.08.2009

Pop George-Victor

MEMORIU DE ACTIVITATE ȘTIINȚIFICĂ

În timpul anilor I-III din cadrul studiilor de licență am activat în Cercul Științific al Catedrei de Anatomie și Embriologie, iar în perioada anilor IV-VI în Cercul Științific al Catedrei de Genetică Medicală.

În perioada cuprinsă între 01.11.2003-31.10.2009 am avut calitatea de doctorand cu frecvență la Catedra de Obstetrică-Ginecologie I de la U.M.F. "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, unde am elaborat teza de doctorat cu titlul "Probleme actuale ale diagnosticului prenatal al sindroamelor cromosomiale" sub conducerea d-lui Prof. Dr. Florin Stamatian. În această perioadă am elaborat și publicat in extenso în calitate de prim-autor, în reviste cotate CNCSIS B+, următoarele 4 lucrări științifice:

- 1. **Pop GV**, Militaru M, Popp R, Stamatian F. *Aspectele moderne ale programelor de screening prenatal al anomaliilor cromosomiale - concepte și metodologie*. Clujul Medical **2007**, vol. LXXX, 2:259-264, ISSN 1222-2119.
- 2. **POP GV**, Kovacs T, Militaru M, Stamatian F. *Eficiența depistării prenatale a anomaliilor cromosomiale în trimestrul II de sarcină*. Obstetrica și Ginecologia **2007**, vol. LV, 2:105-108, ISSN 1220-5532.
- 3. **Pop GV**, Militaru M, Kovacs T, Stamatian F. *Trisomie 16 în mozaic depistată prenatal: prezentare de caz*. Obstetrica și Ginecologia **2007**, vol. LV, 3:187-192, ISSN 1220-5532.
- 4. **Pop GV**, Militaru M, Kovacs T, Stamatian F. *Aspecte citogenetice ale sindromului Down depistat prenatal*. Clujul Medical **2009**, vol. LXXXII, 1:83-85, ISSN 1222-2119.

De asemenea, tot în perioada studiilor doctorale am participat la 26 de manifestări științifice (naționale, internaționale sau regionale) creditate EMC, iar la 6 dintre acestea am prezentat, în calitate de autor sau coautor, lucrări științifice la sesiunile poster. Aceste lucrări, enumerate mai jos, au fost publicate în rezumat în volumele manifestărilor respective :

- 1. **Pop GV**, Militaru M, Stamatian F. *Aspectele citogenetice ale unor mozaicisme cromosomiale depistate prenatal*. Congresul Național de Genetică Medicală, Cluj-Napoca, 20-23.09.2006, vol. rezumate, p. 57.
- 2. **Pop GV**, Militaru M, Stamatian F. *Eficiența depistării prenatale a anomaliilor cromosomiale. studiu retrospectiv pe trei ani și jumătate*. Congresul Național de Genetică Medicală, Cluj-Napoca, 20-23.09.2006, vol. rezumate, p. 57-58.
- 3. Popp R A, Trifa AP, Militaru MS, **Pop GV**, Pop IV. *Testarea genetică în infertilitatea masculină*. Congresul Național al Societății Române de Medicină de Laborator, Sibiu, 11-13 octombrie **2007**, vol. rezumate, p. 34-35.
- 4. Trifa AP, Popp RA, Militaru MS, Pop IV, **Pop GV**. *Testarea polimorfismelor MTHFR și MTHFD1 în avortul spontan recurent*. Congresul Național al Societății Române de Medicină de Laborator, Sibiu, 11-13.10.2007, vol rezumate, p.35.
- 5. Popp RA, Militaru MS, Trifa AP, **Pop GV**, Atășie D. *Tulburările de reproducere și anomaliile cromosomiale*. Simpozionul "Tehnici de reproducere umană asistată - actualități", Sibiu 16-17 noiembrie **2007**, p. 8, ISSN 1221-2873.
- 6. Militaru MS, Popp RA, Trifa AP, **Pop GV**, Atășie D, Stamatian F. *Studiul cromosomilor fetalii din lichidul amniotic în centrul universitar Cluj*. Simpozionul "Tehnici de reproducere umană asistată - actualități", Sibiu 16-17 noiembrie **2007**, p.9, ISSN 1221-2873.

În cea de-a doua parte a stagiului de doctorat, în intervalul 2006-2008, am fost integrat ca membru al echipei în următoarele trei proiecte de cercetare:

- 1. *Bioinformatica secvențelor genice implicate în diviziunea celulară la procariote*, Contract CEx-05-D11-52/07.10.2005, consorțiu cu U.B.B. Cluj-Napoca, U.T. Cluj-Napoca, I.C.B. Cluj-Napoca, U.M.F. Cluj-Napoca, I.N.T.I.M. Cluj-Napoca. Director grant Prof. Dr. Octavian Popescu (2006-2008);
- 2. *Diagnosticul molecular al epidermolizelor buloase. Tehnici moderne de cercetare, diagnostic, tratament și prevenire a epidermolizelor buloase. Realizarea unui registru național al genodermatozelor*, proiect CEEEX 126/2006. Director proiect : Prof Dr. Rodica Cosgarea (2006-2008);
- 3. *Investigarea unor cauze genetice ale tulburărilor de reproducere în populația din România, utilizând metode citogenetice și moleculare, cu impact asupra ameliorării sfatului genetic și a profilaxiei*, proiect CNCSIS, 546/2007-U.M.F. Cluj-Napoca. Director proiect: Prof Dr. Ioan Victor Pop (2007-2008).

28.08.2009

Pop George Victor

University of Medicine and Pharmacy „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca

DOCTORATE THESIS

-SUMMARY-

**CURRENT ISSUES IN PRENATAL DIAGNOSIS
OF CROMOSOMAL ANOMALIES**

**Scientific guiding:
Prof. Univ. Dr. Stamatian Florin**

**Author:
Pop George Victor**

-2009-

CONTENTS

<u>I. Main literature resources</u>	2
1. INTRODUCTION	2
2. OBJECTIVES	2
3. FREQUENCY OF CHROMOSOMAL ABNORMALITIES	2
4. ETIOLOGY AND PATHOGENESIS OF CHROMOSOMAL ABNORMALITIES	2
5. PROPHYLAXIS OF CROMOSOMIAL ABNORMALITIES	2
6. PRENATAL DIAGNOSIS OF CHROMOSOMIAL ABNORMALITIES	3
<u>II. Personal contribution</u>	3
7. MATERIAL AND METHOD	3
-7.1. Inclusion criteria of pregnant woman into the study population at genetic risk for embryos with chromozomial abnormalities.....	3
-7.2. Prenatal genetic consultation.....	3
-7.3. Tehniques for chromosomal analysis.....	3
-7.4. The protocol for prenatal fetal cells cytogenetic diagnosis.....	3
-7.5 Prenatal genetic counselling.....	3
-7.6. Statistic Methodology.....	3
8. PRESENTATION OF THE STUDY. POPULATION	4
9. RESULTS AND DISCUSSION	4
-9.1. Types of chromosomal abnormalities found at prenatal cytogenetic testing.....	4
-9.2. Autosomal aneuploidies found through prenatal cytogenetic testing.....	4
-9.3. Heterosomal aneuploidies found through prenatal cytogenetic testing.....	4
-9.4. Genomic abnormalities diagnosis through prenatal cytogenetic testing.....	4
-9.5. Structural chromosomal abnormalities found at prenatal cytogetic testing.....	6
-9.6. Cytogenetic Sex ratio for cases with chromosomal abnormalities.....	6
-9.7. Distribution of chromosomal homogenous aneuploidies - mosaicism.....	6
-9.8. Distribution for inclusion criteria into the population at study.....	6
-9.9. Analisys of the efficiency of prenatal cytogenetic testing between 2002-2008 interval.....	6
10. CONCLUSIONS	8
11. REFERENCES	9
12. PERSONAL CONTRIBUTION PARAGRAPH: Populational study between 2002-2008, Cases with chromosomal anomalies found between 2002-2008, List of tables and pictures , List of papers from this summary published in full text, List of papers from this summary published in abstract, papers from this PhD thesis published in full text – annexed into the copy.	

Key words: pregnancy with genetic risk, prenatal cytogenetic diagnosis, prenatal screening, numerical chromosomal abnormalities, structural chromosomal abnormalities, genomic anomalies, homogeneous aneuploidy, chromosomal mosaicism, autosomal trisomy, heterosomal trisomy, trisomy 21, trisomy 18, trisomy 13, trisomy X, heterosomal trisomy XXY, monosomy X, Down syndrome, Edwards syndrome, Patau syndrome, Turner syndrome, Klinefeler syndrome, increased gestational age, ultrasoundraphic screening for fetal malformations, positive family history for chromosomal anomalies, recurrent spontaneous miscarriage, cytogenetic testing, chromosomal analysis, genetic counseling, informed consent, genetic consultation, genetic advice.

I. Synthesis of current knowledge

-1. INTRODUCTION

The general frequency of chromosomal syndromes is approximately 0,9% (1 of 160), that of all congenital malformations is about 2%, in alive newborns. This fact lead to aknowledge that chromosomal syndromes and congenital malformations, due to their frequency in the general population are an issue of public health due to high global incidence (0,9% from live newborns) and their chronic, invalidating charactyeristics. They can be prevented, therefore this lead to elaboration and standardization of some prenatal diagnosis methods.

-2. OBJECTIVES

The main objectives of this prospective longitudinal study, which was performed over a 7 years period were: prenatal diagosis of chromosomal anomalies of the embryos, to assess the frequency of chromosomal abnormalities of the population at genetic risk, prophylaxis of fetal chromosomal anomalies, the state of cytogenetic aspects of chromosomal anomalies which were foundbefore birth, to find correlations between indications for prenatal cytogenetic diagnosis and results of the cromosomal analysis made upon fetal cells, as well as a retrospective analysis of family and social benefits of the genetic counseling, of prenatal genetic consultation, of prenatal cytogenetic testing and of making accesible prenatal genetic advise.

The secondary objectives of this study were the standardization and the metodology, of prenatal cytogenetic testing, to asses the efcency of chromosomal analisys as a diagnosis procedure.

-3. FREQUENCY OF CHROMOSOMIAL ANOMALIES

A lot of studies made in many countries showed that reported values for frequency of chromosomal anomalies is different varying with ontogenic period, studied population and method of investigation. Therefore, the mean of frequencies of chromosomal abnormalities, detected with classic cytogenetyc analysis for three periods mention before are: -a) 10% for preconception period (sperms and ovocytes) but it seems that the frecquency is higher. Available data showed that the real situation is underrated; - b) 3% in the case of embryos aged 10 weeks are the cause for 50-60% of the spontaneous miscarriages and for 10% of dead newborns; -c) 0,7–1 % in the case of live newborns (> 1:120), but with tendency of rising to 2% if pregnancy age is over 35 years. [3].

-4. ETHIOPATHOGENESIS OF CHROMOSOMAL ANOMALIES

Chromosomal syndromes are the result of some errors wich occur within cell division and are named chromosomal anomalies. Such errors can occur in 3 ways: -1) abnormal distribution of one or more chromosome haploid sets named polyploids which generate a lethal genetic imbalance for the embryos -2) abnormal distribution of one or more chromosomes named aneuploidy which generate either an lethal genetic unbalance in the case of some types of anomalies or a very serious unbalance for other types of anomalies -3) abnormal distribution of a chromosome segment named structural chromosomal anomaly wich only occasionally leads to a genetic imbalance with milder effect for carrier while sometimes the anomalies can be balanced without obvious effects for carriers but with genetic risk for offspring [3].

-5. PROPHYLAXY OF CHROMOSOMAL ANOMALIES

Prenatal cytogenetic diagnosis has entered into practice in all countries with high social standard through standardized chromosomal analysis by distinct ways. The notion of prophylaxis of genetic diseases is compulsory even in materno-fetal medicine. Genetic diseases prophylaxis has four components: knowing the ethiology of diseases, avoiding the risk factors (genetic and environmental), identifying families and persons who have increased genetic risk and precocious diagnosis of the disease for affected individuals [112].

-6. PRENATAL DIAGNOSIS OF CHROMOSOMAL ANOMALIES

Due to the fact that prenatal diagnosis has as main objective the detection on embryos with a serious disease, prenatal diagnosis offers a precious reproductive option available to couples with increased genetic risk who can take an informed decision. Taking into consideration the fact that in the majority of countries with high standard of life, the problem for quality of next generations is approached in a very efficient and realistic way that made possible the elaboration of the concept of family planning. Through the possibility of prenatal cytogenetic testing, chromosomal analysis brings family, social and medical benefits especially for the couples at high genetic risk [190, 191].

II. Personal contribution

-7. MATERIALS AND METHODS

-7.1. Inclusion criteria of pregnant woman into the study population at genetic risk for embryos with chromosomal abnormalities

The indications to perform prenatal cytogenetic diagnosis for chromosomal anomalies are: advanced maternal age, ultrasound specific signs, results of maternal serum screening which indicates an increased risk for development abnormalities, positive family history and positive obstetrical history for chromosomal anomalies [123].

-7.2. Prenatal genetic consultation

Genetic consultation should be applied to a pregnant woman or a couple with increased genetic risk for chromosomal anomalies. It should aim at: estimating the indications, anamnesis (general, personal, familial and pregnancy), building family pedigree, objective evaluation, data corroboration with other experts, to establish an accurate clinic diagnosis, indication for genetic testing, counselling before testing and establishing of ethiological diagnosis [120].

-7.3. Techniques for chromosomal analysis

Cytogenetic analysis was applied through techniques which allowed: -a) obtaining uniformly coloured chromosomes in which identifying and inventorying was made possible and was useful for cytogenetic diagnosis of aneuploidies and chromosomal mosaicism; -b) marking the stripes of metaphase chromosomes along chromatids with specifically succession and dimensions for each chromosome thus giving them a practical value for structural anomaly diagnosis when bigger than 4×10^6 pb [196].

-7.4. The protocol for prenatal cytogenetic diagnosis from fetal cells

Fetal cells drawn through amniocentesis at 14-20 weeks of gestation, were grown for 10 days at 37°C, pH 7,3 in 5% CO₂ atmosphere on nourishing medium (HAM F10 and amniochrome) adapted and supplemented with a specific nutritive complement for amniocytes colony. Chromosomal analysis was made upon images captured with a video camera and was made on 8 mitosis which originated from different cell clones, the video camera has an immersion objective of 100x [228].

-7.5. Prenatal genetic counselling

Genetic counselling was made available for each pregnant woman/couple which requested prenatal diagnosis with the purpose of taking a reproduction decision. If the result was negative, the meaning of unaffected embryo was underlined without excluding the possibility of false positive result. For the situation of a positive result, genetic counselling was carefully made available and stressed on specifying the: recurrence risk; the possibility of a false positive result; clinical symptoms; prognosis; existence or nonexistence of a treatment possibility and alternative procedures for prenatal genetic testing confirmation/invalidation results [235, 237].

-7.6. Statistical analysis methodology

The results of cytogenetic testing were statistically processed with Microsoft Excel to evaluate the distribution of the study population. Also, the weight of the criterias of inclusion into the study groups

were evaluated with the help of univariate and multivariate analysis methods such as logistic regression and discrimination analysis on 1007 pregnant women [241].

-8. STUDY POPULATION

The study was made on a period from 01.04.2002 to 31.12.2008, and 932 cases were tested for prenatal genetic evaluation. General data concerning the number of cases taken into study were divided per years (study groups) with the purpose of performing prenatal genetic testing and the lost cases through fetal cells colony which were infected respectively the number of subjects for whom the testing was finalized with either positive or negative results as showed below.

Year	Cases taken into the study		Successful cytogenetic testing		
	Genetically tested colonies	Failed cell colonies	Total	Negative result	Positive result
2002	21	10	11	9	2
2003	71	10	61	56	5
2004	141	21	120	113	7
2005	120	11	109	94	15
2006	134	3	131	123	8
2007	258	6	252	235	17
2008	262	14	248	227	21
Total	1.007	75	932	857	75

-9. RESULTS AND DISCUSSION

-9.1. Types of chromosomal anomalies found through prenatal cytogenetic testing

The distribution of chromosomal anomalies indicates that the most common type are autosomal aneuploidies 59%, while the other types represents together about 41% from which heterosomal anomalies are 17%, genomic anomalies 5% and structural anomalies 19% (Fig. 82) [246]. This multi year variation has the following limits: -a) autosomal aneuploidies between 15% and 76%, and a mean value of 59%; -b) heterosomal aneuploidies between 0 and 40%, mean value of 17%; -c) genomic anomalies between 0 and 25%, mean value of 5%; -d) structural anomalies between 0 and 57%, mean value of 19%.

-9.2. Autosomal aneuploidies found through prenatal cytogenetic testing

Our study pointed out that the weight of autosomal aneuploidies was approximately 3/5 of all chromosomal anomalies. In this group the following distribution of different chromosomal anomalies was found (Fig. 90): trisomy 21-56,82%; trisomy 18-25%; trisomy 13-4,54%; rare autosomal aneuploidiae – 13,64% [191, 249, 250, 253, 262, 287].

-9.3. Heterosomal aneuploidies found through prenatal cytogenetic testing

Throughout the study 75 true positive cases with chromosomal anomalies were found of which 13 cases presented heterosomal aneuploidies (Fig. 82), and they represent 17,33%. Inside the heterosomal aneuploidies group, the distribution on different chromosomal anomalies (Fig. 96) was: -a) monosomy X- 6 cases (46,15%); -b) heterosomal trisomy XXY- 4 cases (30,77%); -c) heterosomal trisomy XXX – 3 cases (23,08%) [295].

-9.4. Genomic abnormalities diagnosis through prenatal cytogenetic testing

Genomic anomalies are the cause of approximately 1/5 from spontaneous miscarriages due to the severity of development deficiencies. Throughout the study, 4 cases were found using prenatal cytogenetic testing and with a ratio of 0,55 that is comparable with the positive genetic tested group ratio, which represent 5,33% from a total of 75 cases of fetal chromosomal anomalies. Concerning genomic anomalies, embryos are eliminated in 99,9% of cases. [311]. From the 4 cases above mentioned, 3 had homogeneous triploidy, the fourth had tetraploidy mosaicism with an euploid cell line, XX cytogenetic sex respectively a tetraploid cell line (Fig. 97) which included XX/XY gonosomes.

Fig. 82. Distribution of aneuploidies from 2002-2008

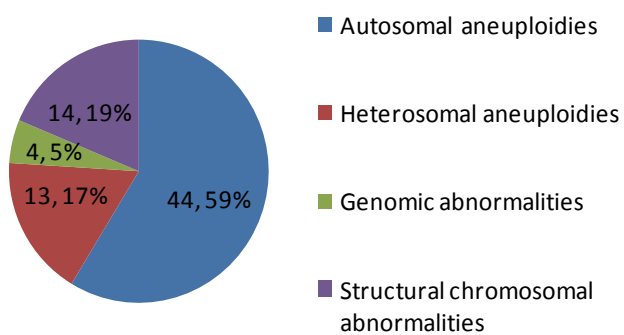


Fig. 90. Distribution of autosomal aneuploidies which were diagnosed during 2002-2008 period

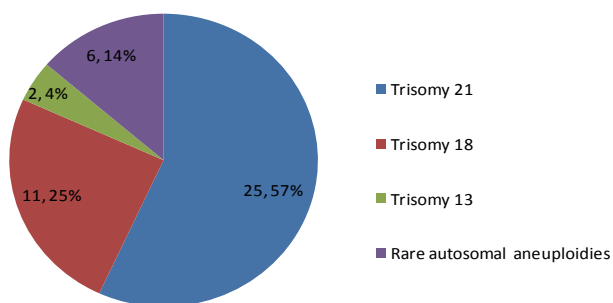


Fig. 96. Distribution of heterosomal aneuploidies during 2002-2008 interval

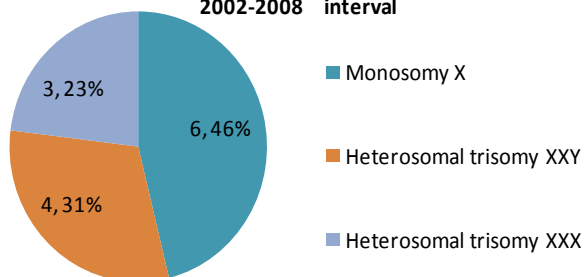
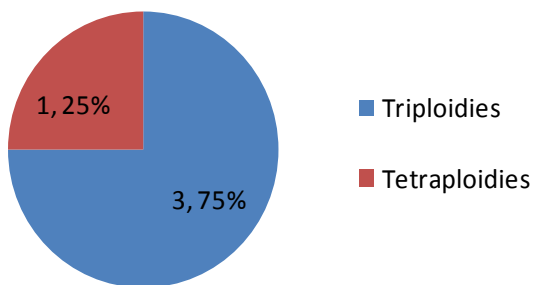


Fig. 97. Distribution of genomic anomalies for the whole interval of the study



-9.5. Structural chromosomal abnormalities found at prenatal cytogenetic testing

Structural anomalies display great diversity with different phenotype effects varying according to the type of chromosomal rearrangement.

The prospective study, stretched over 7 years, detected 75 cases of chromosomal anomalies of which 14 (18,66%) were structural chromosomal anomalies (Fig. 98).

Due to their variety, different phenotypic effects that are sometimes very severe other times very mild (making the diagnosis difficult), often these structural anomalies are underdiagnosed. The following categories of chromosomal rearrangements were included in the structural anomalies group (Fig. 98):

- a) marker chromosomes – 5 cases (35,71%);
- b) chromosomal deletions – 4 cases (28,57%);
- c) chromosomal translocations – 3 cases (21,43%);
- d) rare structural anomalies – 2 cases (14,29%) [109].

-9.6. Cytogenetic sex ratio of cases with chromosomal abnormalities

During the 2002-2008 interval, 75 cases with different chromosomal anomalies were identified and for these the male/female ratio was 1,27 (42:33 or 56% to 44% or 1:0,79). If the specific feature of one of the cases which is tetrasomy mosaicism 46,XX/92,XXXY which presented heterosomal for both male and female, is taken into account, the ratio becomes 41:33 respectively 1:0,8 (Fig. 99) [250].

-9.7. Distribution of chromosomal homogenous aneuploidies

The difference of phenotype expression has diagnosis significance for homogenous forms which are very severe compared to mosaicisms. They have a variable phenotypic expression varying with degree of mosaicism and tissue/tissues in which mutant cell clones exist.

After assessing these 75 cases detected with chromosomal anomalies over 7 years interval, we established that the ratio between homogeneous anomalies and mosaicism anomalies is 58:17 (77%:23%) respectively 1:0,23 (Fig. 108) [325].

-9.8. Distribution according to inclusion criteria of the study population

After statistical analysis with Microsoft EXCEL of the global weight through 7 years of the study (Fig.111), for each of inclusion criteria or for composite criteria, we observed the following:

- a) the individual weight for each criteria declines in the following way:

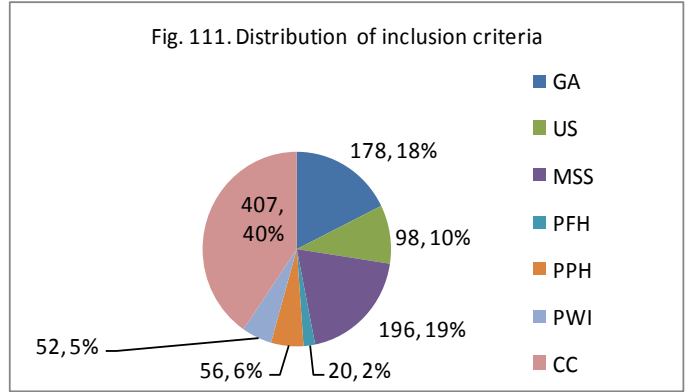
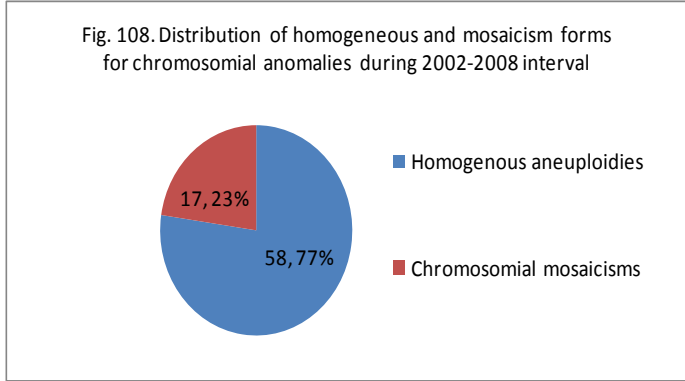
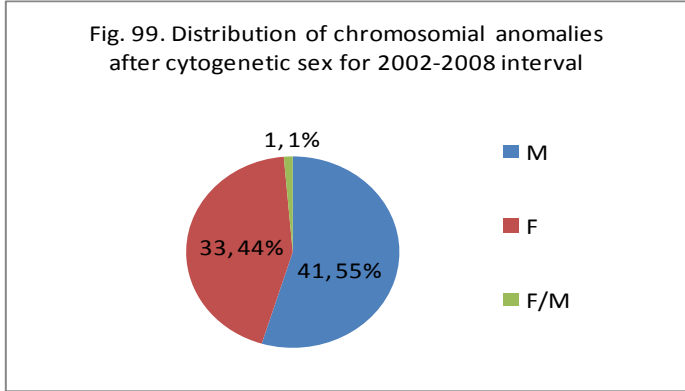
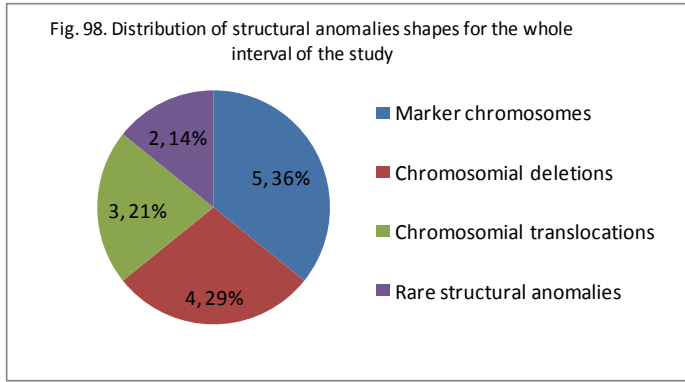
Maternal serum screening > Gestational age >Ultrasound signs > Positive parental history > Positive family history (MSS>GA>US>PPH>PFH);

- b) criteria combinations had a weight of 40%;
- c) for positive cases, the combination of two/three criteria had a weight of 57,89% respectively 42,11%;
- d) for positive cases, distribution of combinations of two criterias (see Annexe 12.2) is advanced gestational age-maternal serum screening (54,55%), advanced gestational age-ultrasonographic signs (18,18%), ultrasound signs-maternal serum screening (18,18%), maternal serum screening-positive parental history (9,09%) [249].

-9.9. Efficiency analysis of prenatal cytogenetic testing for the 2002-2008 interval

Genetic testing was performed as an longitudinal prospective study over 81 months, from 01.04.2002 till 31.12.2008. 1007 pregnant women with increased genetic risk were included into the study, based on 6 well established inclusion criteria, but genetic testing was effectively performed on 932 cases because a small number of tests failed every year due to cell colony failure (Table 27) [237, 333].

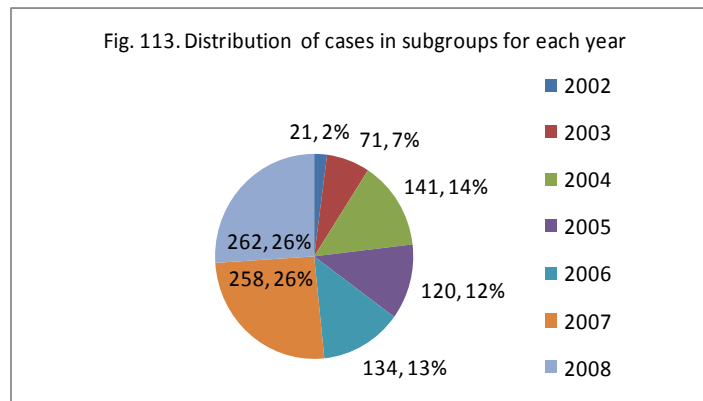
The group of study was organised on 7 subgroups, one for each year and the number of cases increased from 2002 to 2008, resulting in a 12,5 fold increase. The increase rate tripled between 2002 to 2003 then doubled from 2003 to 2004 and then it was at the same level till 2007. Between 2007 - 2008 the number of included cases doubled compared to the number of cases from 2004-2006 interval (Fig. 113). By taking out the number of cases for which fetal cell colonies failed, the dynamic for successful cytogenetic testing cases had a similar tendency.



-GA-gestational age
 -PFH-positive family history
 -CC-criteria combinations

-US-ultrasound signs
 -PPH-positive parental history

-MSS-maternal serum screening
 -PWI-pregnant women initiative



-10. CONCLUSIONS

-1. The present study was performed over a time duration of 7 years on 1007 pregnant women at increased genetic risk. 932 cases were effectively tested for chromosomal anomalies for diagnosis and prophylactic aims.

-2. From these 932 cases with cytogenetic tests, 857 (91,95%) subjects had a negative result and 75 (8,05%) had a positive result thus influenced the couple's reproductive decision.

-3. The distribution of chromosomal anomalies show that the most frequent type, identified through cytogenetic tests is represented by autosomal aneuploidies, which represent 3/5 (59%) while the other three types of anomalies represent together 2/5 (41%) as follows: heterosomal anomalies -17%, genomic anomalies -5,33% and structural anomalies -19%.

-4. Inside the group with autosomal aneuploidies, trisomy 21 was found in 56,82%, trisomy 18 in 25%, trisomy 13 in 4,54% and rare autosomal aneuploidies in 13,64%.

-5. For the heterosomal aneuploidies group, the proportions were: 46,15% for monosomy X, 30,77% for heterosomal trisomy XXY and 23,08% for heterosomal trisomy XXX.

-6. For structural chromosomal anomalies the proportions were: 35,71% for marker chromosomes; 28,57% for chromosomal deletions; 21,43% for chromosomal translocations and 14,29% for rare structural anomalies.

-7. For the autosomal aneuploidies group, sex ratio M/F was 1,08 (13:12 or 52%:48%, respectively 1:0,92) for trisomy 21 and 0,83 (5:6 or 45%:55%, respectively 1:1,2) for trisomy 18.

-8. The homogeneous anomalies to chromosomal mosaicism ratio was 3,41 (58:17 or 77%:23%, respectively 1:0,23), homogeneous shapes to mosaicisms ratio on cytogenetic sex XY/XX was 1,64 (36:22 or 62%:38%, respectively 1:0,61), while for mosaicism shapes was reversed and had a value of 0,45 (5:11 or 29%:65%, respectively 1:2,2).

-9. Statistical analysis using Microsoft EXCEL, of the global proportions, for inclusion criteria or for combinations of the inclusion criteria emphasized the following:

-individual proportion of each criteria decreases in the following way: SSM>VG>SEA>AP+>IF+;

-combined criterias were found in 40% of cases;

-in positive cases association of 2-3 criteria were found in 57,89%, respectively 42,11%;

-in positive cases, distribution of 2 criteria combination was: advanced gestational age-maternal serum screening (54,6%), advanced gestational age-ultrasound signs (18,2%), ultrasound signs-maternal serum screening (18,2%), maternal serum screening-positive parental history (9,0%).

-10. The most important aspect of genetic testing efficiency consists in making genetic counseling available in order to enable the couple to take an informed decision on pregnancy continuation. In all 1007 cases, the genetic counselling was made before testing the patient and for these 75 cases with chromosomal anomalies, genetic counseling was made before and after testing. The decision whether to continue or not the pregnancy with the affected embryo belonged entirely to the couple.

11. SELECTED REFERENCES

- 3. Bond DJ and Chandley AC - Aneuploidy - *Oxford Monographs on Medical Genetics*, No. 11. Oxford University Press, Oxford, UK, **1983**, pp198.
- 109. Bartsch O, Loitzsch A, Kozlowski P, Mazauric ML, Hickmann G - Forty-two supernumerary marker chromosomes (SMCs) in 43,273 prenatal samples: chromosomal distribution, clinical findings, and UPD studies - *Eur J Hum Genet* **2005**,13(11):1192-1204.
- 112. Bubb JA, Matthews AL - What's new in prenatal screening and diagnosis? - *Prim Care* **2004**, 31(3):561-582.
- 120. Bennett RL – The practical guide to the genetic family history – Wiley-Liss, NY, **1999**.
- 123. Aitken DA, Crossley JA, Spencer K - Prenatal screening for neural tube defects and aneuploidy - *Principles and Practice of Medical Genetics*. Ed. DL Remoin, JM Connor, RE Pyeritz, BR Korf, 4-th E, Churchill Livingstone, London, Edinburgh, **2002**, p. 763-1401.
- 190. ***ACOG Committee on Practice Bulletins - ACOG Practice Bulletin No. 77: Screening for fetal chromosomal abnormalities - *Obstet Gynecol* **2007**, 109(1):217-228.
- 191. ***Orphanet –Data base for genetic disease: <http://orphanet.infobiogen.fr>
- 196. ***Prenatal diagnosis – Methods and Indications: <http://omni.ac.uk/browse/mesh/detail/C0033053L0033053.html#1>
- 228. Richardson A – Analysis of Cytogenetic Abnormalities, part I, Chromosome analysis – in *The ACT Cytogenetics Laboratory Manual*, 2-nd edit, Barch MJ (ed), Raven Press, New York, **1991**, p. 329-382.
- 235. Quadrelli R, Quadrelli A, Mechoso B, Laufer M, Jaumandreu C, Vaglio A - Parental decisions to abort or continue a pregnancy following prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities in a setting where termination of pregnancy is not le-
- 237. **Pop GV**, Militaru M, Popp R, Stamatian F – The modern aspects of prenatal screening programs for chromosomal anomalies - *Clujul Medical* **2007**, 80(2):259-264, ISSN 1222-2119.
- 241. Altman DG – Practical statistics for medical research – London, Chapman and Hall, **1990**, p. 485-517. -6-9. Alfi OS, Chang R, Azenn SP – Evidence of genetic control of nondisjunction in man - *Am J Hum Genet* **1980**, 32:477-483.
- 246. Militaru MS, Popp RA, Trifa AP, **Pop GV**, Atasiu D, Stamatian F –The study of fetal chromosomes from amniotic fluid in Cluj University Center – Symposium Techniques of assisted human reproduction – present, Sibiu 16-17 november **2007**, p.9, ISSN 1221-2873.
- 249. Durkovic J, Andjelic L, Petricevic M, Nikodijevic AM, Matkovic EE - Chromosome Aberration in Spontaneous and Induced Abortions in the First Three-Month Period of Pregnancy – [Journal of Women's Health www.liebertpub.com/jwh](http://www.liebertpub.com/jwh)
- 250. Lebedev IN, Ostroverkhova NV, Nikitina TV, Sukhanova NN, Nazarenko SA - Features of chromosomal abnormalities in spontaneous abortion cell culture failures detected by interphase FISH analysis - *European Journal of Human Genetics* **2004**, 12, 513–520.
- 253. Vorsanova SG, Kolotii AD, Iourov IY, Monakhov VV, Kirillova EA, Soloviev IV, Yurov YB - Evidence for High Frequency of Chromosomal Mosaicism in Spontaneous Abortions Revealed by Interphase FISH Analysis - *J Histochem Cytochem*, **2005**, 53 (3):375-380.
- 262. **Pop GV**, Militaru M, Kovacs T, Stamatian F – Cytogenetic aspects of prenataly diagnosed Down syndrome - *Clujul Medical* **2009**, 82(1):83-85, ISSN 1222-2119.
- 287. **Pop GV**, Militaru M, Kovacs T, Stamatian F - Trisomy 16 in mozaic prenataly diagnosed: case presentation - *Obstetrica si Ginecologia* **2007**, 55(3):187-192, ISSN 1220-5532.
- 295. Guttenbach M, Koschorz B, Bernthaler U, Grimm T and Schmid M - Sex chromosome loss and aging: in situ hybridization studies on human interphase nuclei - *Am J Hum Genet* **1995**, 57:1143–1150.
- 311. Inoue K and Lupski JR - Molecular mechanisms for genomic disorders - *Annu Rev Genomics Hum Genet* **2002**, 3:199-242.
- 333. **Pop GV**, Kovacs T, Militaru M, Stamatian F – Prenatal diagnosis efficiency of second trimester chromosomal anomalies - *Obstetrica si Ginecologia* **2007**, 55(2):105-108, ISSN 1220-5532.

Curriculum vitae

1. Personal data

- Name: **POP**
- First name: **George-Victor**
- Date of birth: 21.08.1977
- Place of birth: Cluj-Napoca
- Marital status: Married

2. Studies

- 1991-1995: “George Barițiu” Highschool, Cluj-Napoca
 - High School Graduation Diploma series N, nr. 011417 / 352 / 16.08.1995)
- 1996-2002: University of Medicine and Pharmacy “Iuliu Hatieganu”. Cluj-Napoca
 - University Graduation Diploma series U, nr. 0049111 / 774 / 26.02. 2003

3. Professional record

- 15.04.2003-15.10.2003: Junior physician- County Emergency Hospital Cluj, IInd Surgery Clinic
- 16.10.2003-16.04.2003: - Junior physician- County Emergency Hospital Cluj, I Clinic of Medicine
- 2003 – Residency Exam passed with maximum score
- 01.01.2004 - 31.12.2008: Residency in Obstetrics-Gynaecology –outside of quota
- 01.01.2009 - 30.10.2009: Resident in Obstetrics-Gynecology – with quota
- 2008 - november – Specialist MD Exam in obstetrics-gynaecology
- 2009 – first year as residen in general surgery

4. Scientific record

- 01.11.2003-31.10.2009 – Medical **undergraduate** with attendance -U.M.F. Cluj-Napoca, At the department of Obstetrics-Gynaecology I
 - Title of the thesis - “Prenatal diagnosis current problems of chromosomal syndromes”
 - Scientific guidance – Prof. Dr. Florin Stamatian
- participation at 26 national, international EMC credited scientific meetings
- author or co-author of 6 published articles and oral/poster presentations
- first autor of 4 in extenso published articles in CNCSIS B+ approved medical publications
- 2006 - 2008 - participation at 3 research projects (2-CEEX and 1-CNCSIS), as member of the research team.

5. Member of scientific associations:

- Romanian Association of Medical Genetics (SRGM): since 2005

6. Foreign languages

- English (speaking, reading, writing) – very good
- French (speaking, reading, writing) – good

22.09.2009

Pop George-Victor

MEMORIAL OF SCIENTIFIC RECORD

Through the first three years of study at the University I activated into the Students' Debating Society at Anatomy and Embriology Department and from fourth year till the sixth I was a member of Students' Debating Society at Medical Genetics' Department.

Between 01.11.2003 till 31.10.2009 I was attendance medical undergraduate at the department of Obstetrics-Gynaecology I, of the U.M.F. "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, where I worked on the thesis "Prenatal diagnosis current problems of chromosomal syndromes" under the supervision of Prof. Dr. Florin Stamatian. During this time I published as first author, in CNCSIS B+ approved medical publications, the following four in extenso articles:

- 1. **Pop GV**, Militaru M, Popp R, Stamatian F. Modern aspects of prenatal sceening programs for chromosomal anomalies - *concepts and methodology*. Clujul Medical **2007**, vol. LXXX, 2:259-264, ISSN 1222-2119.
- 2. **POP GV**, Kovacs T, Militaru M, Stamatian F. Efficiency of chromosomal anomalies prenatal diagnosis in second trimester . *Obstetrica si Ginecologia* **2007**, vol. LV, 2:105-108, ISSN 1220-5532.
- 3. **Pop GV**, Militaru M, Kovacs T, Stamatian F. Prenatal diagnosis *Trisomy 16 mosaicism* :*Case presentation* . *Obstetrica si Ginecologia* **2007**, vol. LV, 3:187-192, ISSN 1220-5532.
- 4. **Pop GV**, Militaru M, Kovacs T, Stamatian F. Cytogenetic aspects of prenatal diagnosis in Down syndrome. *Clujul Medical* **2009**, vol. LXXXII, 1:83-85, ISSN 1222-2119.

During the above mentioed period I took part in 26 national and international EMC credited scientific meetings, and at 6 of them I had poster presentations as first author or co-author. These works listed below, were published in abstract form in the volume of abstracts

- 1. **Pop GV**, Militaru M, Stamatian F. Cytogenetic aspects of some prenataly diagnosed chromosomal mosaicisms. National Congress of Medical Genetics, Cluj-Napoca, 20-23.09.2006, vol. rezumate, p. 57.
- 2. **Pop GV**, Militaru M, Stamatian F. Efficiency of chromosomal anomalies prenatal diagnosis. Retrospective study on 3 and half years . *Medical Genetics National Congress* , Cluj-Napoca, 20-23.09.2006, vol. rezumate, p. 57-58.
- 3. Popp R A, Trifa AP, Militaru MS, **Pop GV**, Pop IV. *Genetic testing in male infertility*. National Congress of Romanian Society of Laboratory Medicine, Sibiu, 11-13.10. **2007**, vol. rezumate, p. 34-35.
- 4. Trifa AP, Popp RA, Militaru MS, Pop IV, **Pop GV**. Testing MTHFR and MTHFD1 polymorphisms in recurrent spontaneous miscarriage. National Congress of the Romanian Society of Laboratory Medicine, Sibiu, 11-13.10.**2007**, vol rezumate, p.35.
- 5. Popp RA, Militaru MS, Trifa AP, **Pop GV**, Atasiu D. Reproduction disorders and chromosomal anomalies. Symposium "Techniques of human assisted reproduction –present aspects", Sibiu 16-17.11.**2007**, p. 8, ISSN 1221-2873.
- 6. Militaru MS, Popp RA, Trifa AP, **Pop GV**, Atasiu D, Stamatian F. Study OF Fetal chromosomes from the Amniotic Fluid in Cluj University Center. Symposium "Techniques of human assisted reproduction –present aspects", Sibiu 16-17.11.**2007**, p.9, ISSN 1221-2873.

Between 2006-2008, I was member of the researc teams of the following three research projects:

- 1. Bioinformatics of genic sequences involved in cell divisions at procaryotes", Contract CEX-05-D11-52/07.10.2005, consortium with U.B.B. Cluj-Napoca, U.T. Cluj-Napoca, I.C.B. Cluj-Napoca, U.M.F. Cluj-Napoca, I.N.T.I.M. Cluj-Napoca. Grant manager Prof. Dr. Octavian Popescu (2006-2008);
- 2. Molecular diagnosis of bubble epidermolysis. Modern techniques of research, diagnosis, treatment and prevention for bubble epidermolysis. Implementation of a national register for genodermatosis, project CEEX 126/2006. Project manager: Prof Dr. Rodica Cosgarea (2006-2008);
- 3. Investigating some genetic causes responsible for reproduction disorders in Romanian population, using cytogenetic and molecular methods, with impact on improvement of the genetic counselling and prophylaxis, project CNCSIS, 546/2007-U.M.F. Cluj-Napoca. Proiect manager : Prof Dr. Ioan Victor Pop (2007-2008).

22.09.2009

Pop George Victor