

LA DIAGNOSI PRENATALE

La diagnosi prenatale rappresenta un percorso volto a monitorare lo stato di salute e di benessere fetale durante il corso della gravidanza e si avvale di un insieme di indagini strumentali, di laboratorio e di professionalità multidisciplinari.

L'avvento di nuove tecnologie nell'ambito di diagnostica prenatale ha portato ad un ampliamento delle possibilità diagnostiche e di screening, ma dall'altro lato ha reso più complesso il percorso informativo da parte dei sanitari e decisionale da parte della donna/coppia.



Le condizioni di patologia fetale, su cui queste indagini possono formulare un sospetto diagnostico o una diagnosi di certezza sono fundamentalmente malattie di origine genetica.

Che cosa sono le malattie genetiche?

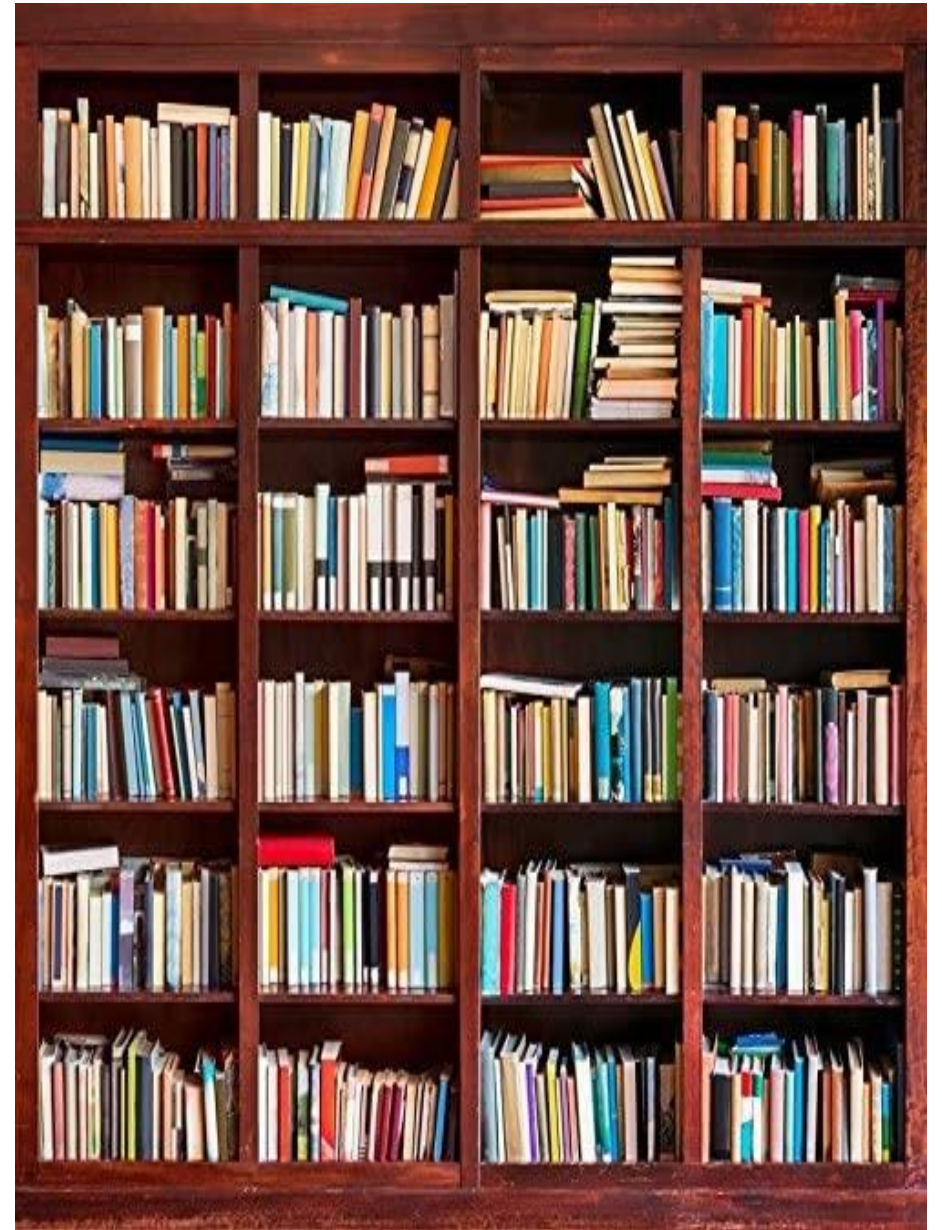
Le malattie di origine genetica sono malattie che derivano da una alterazione del patrimonio genetico e per la loro diagnosi vengono utilizzate metodiche di laboratorio citogenetiche e genetiche.

In linea generale è possibile riconoscere tre grossi sottogruppi di malattie di origine genetica:

1. Malattie cromosomiche: alterazioni del numero o della struttura dei cromosomi;
2. Sindromi da microdelezioni e microduplicazioni: mancanza o duplicazione di piccoli tratti di DNA;
3. Malattie monogenetiche: alterazione dei piccoli geni.

Che cosa sono i cromosomi e i geni?

I cromosomi sono i “contenitori” delle informazioni genetiche. Nella specie umana i cromosomi sono 46 per ogni cellula, divisi in 23 coppie (corredo cromosomico). La 23° coppia di cromosomi differenzia i due sessi (XX – femmina; XY – maschio). Ogni coppia di cromosomi è formata da un cromosoma di origine materna e uno di origine paterna acquisiti al momento del concepimento. L’analisi citogenetica del corredo cromosomico, è detta cariotipo o mappa cromosomica. Semplificando, si può immaginare la mappa cromosomica come una libreria in cui abbiamo 46 libri disposti in 23 coppie. All’interno di ciascun cromosoma sono contenuti numerosi geni. I geni sono tratti di DNA che codificano una specifica informazione. Riprendendo l’esempio della libreria, è possibile immaginare il DNA compattato come le pagine di ciascun libro, e i geni come le parole di ciascuna pagina.

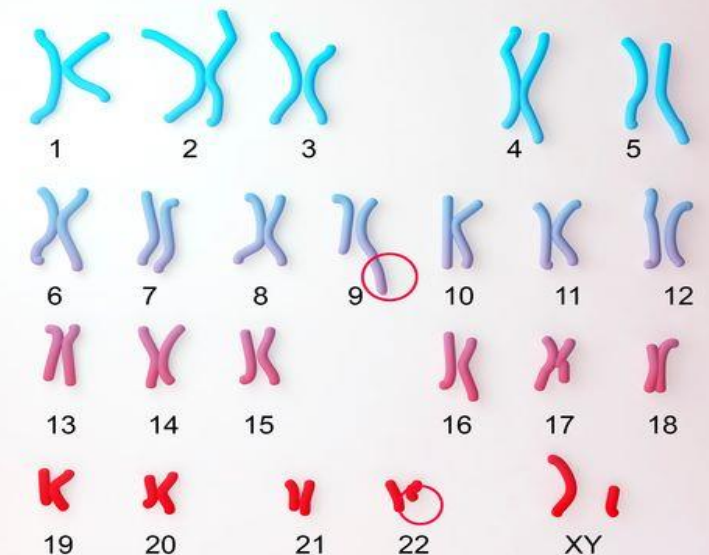


Che cosa sono le anomalie dei cromosomi?

Le anomalie dei cromosomi, dette anche aneuploidie, sono dovute ad una alterazione del numero o della struttura dei cromosomi.

Le anomalie dei cromosomi rappresentano la malattia genetica più frequente colpendo quasi l'1% dei neonati. La diagnosi è possibile mediante l'esecuzione del cariotipo fetale su villi coriali (ottenuti mediante villocentesi) o amniociti (ottenuti mediante amniocentesi).

La gravità delle anomalie cromosomiche è variabile e dipende dal cromosoma coinvolto e dal tipo di alterazione. Alcune anomalie cromosomiche sono precocemente letali in quanto associate alla presenza di gravi malformazioni, mentre altre anomalie si correlano ad un'aspettativa e ad una qualità di vita meno sfavorevoli, comportando handicap fisici e mentali di minore entità; altre ancora possono essere del tutto asintomatiche oppure causare infertilità.



Le anomalie cromosomiche più frequenti sono la trisomia 21, 18 e 13. Il termine "trisomia" indica la presenza di un cromosoma in più (sovranumerario), mentre il numero indica il cromosoma coinvolto. Le trisomie 21, 18 e 13 costituiscono da sole circa il 50-70% delle anomalie del cariotipo, motivo per cui la maggior parte dei test di screening per le anomalie cromosomiche è volta alla ricerca di queste aneuploidie. La frequenza delle tre trisomie più frequenti dipende dall'età materna. Seguono per frequenza le anomalie dei cromosomi sessuali.

Che cosa è la trisomia 21 o sindrome di Down?

La trisomia 21, o la sindrome di Down, è caratterizzata dalla presenza di un cromosoma 21 in più (anziché due). È la causa genetica più frequente di ritardo mentale e si associa ad un aumentato rischio di malformazioni congenite (malformazioni cardiache, intestinali, ecc.). Colpisce, nella popolazione generale, circa un neonato su 800.

Che cosa sono la trisomia 18 e la trisomia 13?

Anche la trisomia 18 (o sindrome di Edwards) e trisomia 13 (o sindrome di Patau) sono anomalie dei cromosomi dovute alla presenza di un cromosoma soprannumerario in sede 18 e 13 rispettivamente. Entrambe le condizioni sono il più delle volte letali, caratterizzate da un grave ritardo mentale e da malformazioni multiple.

Che cosa sono le anomalie dei cromosomi sessuali?

Le anomalie dei cromosomi sessuali sono alterazioni in eccesso o in difetto del loro numero, dando le seguenti condizioni:

- polisomie: 47XXX, 47XXY, 47XYY, generalmente associate ad una sintomatologia lieve o nessuna sintomatologia;
- monosomie: 45X0 o sindrome di Turner, condizione in cui manca un cromosoma X, che può presentare uno spettro variabile.



Chi è a maggior rischio di avere un bambino affetto da un'anomalia cromosomica?

Ci sono alcune condizioni che aumentano il rischio di avere un figlio affetto da alcune anomalie cromosomiche:

- età materna avanzata;
- presenza di un test di screening per le anomalie cromosomiche positivo;
- presenza di anomalie morfologiche riscontrate all'ecografia;
- precedente gravidanza con feto affetto da un'anomalia cromosomica;
- genitore portatore di un'anomalia cromosomica strutturale.

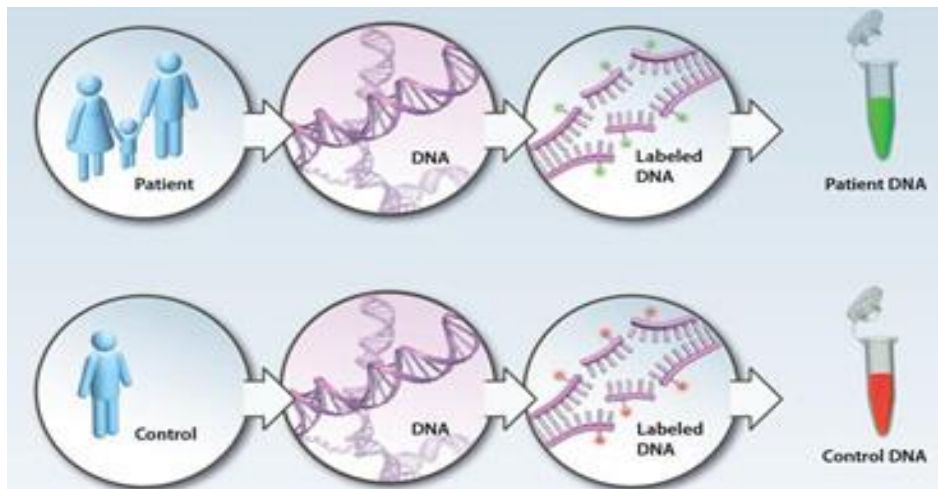
Non esiste una età al di sotto della quale il rischio per le anomalie cromosomiche sia assente, anche se quest'ultimo aumenta all'aumentare dell'età materna. Le trisomie 13, 18 e 21 da sole costituiscono circa il 50-70% delle anomalie cromosomiche indagabili con il cariotipo fetale. La prevalenza di tali anomalie cromosomiche è correlata all'età della donna.

Che cosa sono le sindromi da microdelezione e da microduplicazione?

Le sindromi da microdelezione e microduplicazione sono anomalie genetiche caratterizzate dalla perdita (microdelezione) o dalla acquisizione (microduplicazione) di un piccolo tratto di DNA. Sia le microdelezioni che le microduplicazioni possono causare sindromi genetiche clinicamente riconoscibili e di variabile importanza clinica (es. sindrome di DiGeorge o delezione 22q11.21, ecc.). Le sindromi da microdelezione o da microduplicazione sono piuttosto rare nella popolazione generale con una prevalenza variabile da un caso su 2.000 a un caso su 50.000 nati vivi.

La diagnosi di queste anomalie non è effettuabile mediante l'analisi del cariotipo, bensì con l'utilizzo di specifiche analisi di approfondimento (analisi Array).

La loro ricerca non viene eseguita di routine, ma su indicazioni particolari (in seguito ad una consulenza genetica, in presenza di segni ecografici specifici, eccetera).





Che cosa sono le malattie monogeniche?

Le malattie monogeniche sono dovute ad alterazioni di uno o più geni (tratti di DNA che specificano una singola informazione). Sono responsabili di numerosissime sindromi cliniche, singolarmente rare nella popolazione generale, ma caratterizzate prevalentemente da trasmissione ereditaria ed elevati rischi di ricorrenza. Tuttavia, le malattie genetiche possono anche insorgere ex novo quando la mutazione non è presente nei genitori, ma insorge per la prima volta nel feto che, a sua volta può trasmetterla ai propri figli.

Alcuni esempi di malattie genetiche sono: fibrosi cistica, talassemia, distrofia muscolare, ecc.

Al momento attuale non è disponibile un'indagine di laboratorio che consenta di identificare tutte le malattie monogeniche e non tutte sono diagnosticabili in epoca prenatale. La diagnosi prenatale delle malattie monogeniche ereditarie viene effettuata in maniera "mirata", su indicazione specifica posta dal genetista.

CHE COSA SONO I TEST DI SCREENING E I TEST DIAGNOSTICI?

I test di screening per le anomalie cromosomiche più frequenti sono esami che individuano nella popolazione generale i casi che hanno una maggiore probabilità di presentare una malattia dei cromosomi, distinguendo quindi gravidanze a basso ed alto rischio per queste condizioni. I test di screening sono per definizione non invasivi.

Il test diagnostico per le anomalie genetiche è un test che individua o esclude direttamente la presenza di una certa malattia genetica. Le metodiche diagnostiche sono nel contempo invasive poiché prevedono il prelievo di materiale fetale o placentare per l'esecuzione di analisi genetiche (cariotipo, Array, o altre analisi genetiche specifiche).



TEST DI SCREENING

I test di screening oggi proposti, ancorché con accuratezza variabile, valutano la probabilità che il feto sia affetto da anomalie cromosomiche più frequenti, ossia trisomia 21, 18 o 13 (circa il 50-70% di tutte le anomalie cromosomiche indagabili con il cariotipo fetale).

Il vantaggio di un test di screening è di essere innocuo per la madre e il feto. Lo svantaggio è di poter risultare falsamente alterato (falsi positivi) o falsamente rassicurante (falsi negativi). La proporzione di falsi positivi e falsi negativi dipende dal tipo di test utilizzato.

L'offerta dei test di screening è piuttosto ampia: le opzioni possibili sono numerose e, di fatto, a volte confondenti potendo rendere il percorso informativo e decisionale, a volte, molto complesso.

Il primo parametro utilizzato quale strumento di screening per la sindrome di Down è stato l'età materna sulla base dell'osservazione di un'associazione tra la sindrome di Down ed età avanzata della madre.

Al fine di migliorare la performance dello screening per le anomalie cromosomiche più frequenti, negli ultimi 30 anni sono stati introdotti altri parametri di valutazione, di tipo ecografico, biochimico o genetico, utilizzati in un unico momento nel primo trimestre o in momenti successivi nel corso del primo e del secondo trimestre.

IL TEST COMBINATO

ETA'
MATERNA



NT



PAPP-A
FREE
BHCg

La misurazione della translucenza nucale, consiste nella misurazione dello spessore dei tessuti molli a livello della nuca del feto. La translucenza nucale appare più ispessita nei feti affetti da anomalie cromosomiche più frequenti (trisomia 21, 13 e 18).



Alla donna verrà fornito un rischio “pre-test” basato sulla sola età materna e uguale per tutte le donne di quella specifica età, ed un rischio “post-test” basato sulla valutazione dell’età materna associata ai valori della translucenza nucale e della biochimica materna, che è il rischio individuale e specifico per quella determinata gravidanza.

IL TEST COMBINATO

Quando viene eseguito il test combinato?

La misurazione della translucenza nucale deve essere eseguita tra la 11° e 13° settimana di gestazione, mentre il prelievo sanguigno può essere eseguito prima, contestualmente o dopo la misurazione della translucenza nucale, a seconda dell'organizzazione del Centro che esegue il test combinato.

Qual è l'accuratezza del test combinato?

Il test combinato ha una capacità di identificare circa l'85-90% dei feti affetti da trisomia 21 con circa il 5% di falsi positivi. I falsi positivi indicano la situazione in cui il test di screening risulta ad alto rischio, ma la condizione di patologia non viene confermata dal test diagnostico (villocentesi o amniocentesi). L'aggiunta dell'osso nasale aumenta la sensibilità del test combinato a circa 90-94%. Per quanto concerne l'attendibilità del risultato è molto importante che il test venga eseguito da operatori esperti e certificati, che seguono protocolli codificati e che sappiano fornire una corretta informazione sul valore da attribuire ai risultati degli esami.

Che cosa significa test combinato ad alto rischio?

In accordo a quanto stabilito dai nuovi livelli essenziali di assistenza, il cut-off stabilito per definire la popolazione ad alto rischio è di 1:300. Tale valore stabilisce la soglia al di sopra della quale è consentito l'accesso alla diagnosi prenatale invasiva in regime di esenzione dalla partecipazione alla spesa sanitaria. Se il test combinato risulta ad alto rischio, questo non implica una certezza di una anomalia dei cromosomi, piuttosto una maggiore probabilità. L'unico modo per appurare con certezza se il feto è veramente affetto da un'anomalia cromosomica, è quello di eseguire un test diagnostico invasivo (villocentesi o, più tardivamente, amniocentesi).

Che cosa significa test combinato a basso rischio?

Il test combinato a basso rischio significa che la donna risulta a basso rischio di avere un figlio affetto da anomalie cromosomiche indagate (trisomia 21, 13 o 18), per quanto non lo si possa escludere in maniera assoluta. Infatti, anche in presenza di un test combinato a basso rischio persiste un rischio residuo che il feto sia affetto dalla trisomia 21, 18 o 13 e solo l'esecuzione di accertamenti invasivi consente di escludere con certezza in epoca prenatale un'anomalia cromosomica.

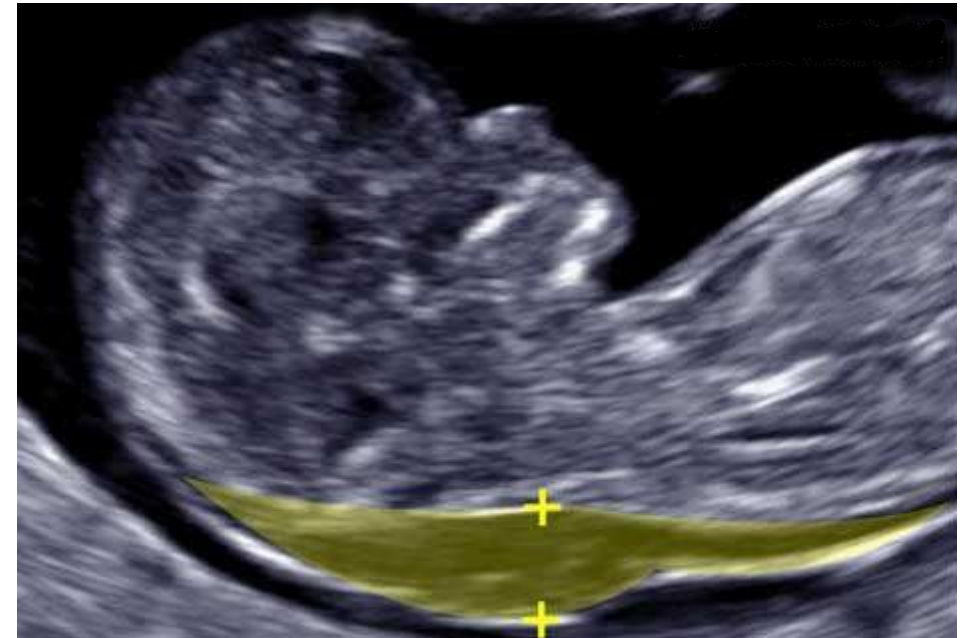
Che cosa significa test combinato a rischio intermedio?

Studi internazionali hanno identificato una fascia di rischio intermedio compresa tra l'alto e il basso rischio (da 1:300 a 1:1.000) in cui sembrano concentrarsi maggiormente i risultati falsamente negativi del test combinato. In tali condizioni possono essere proposti ulteriori accertamenti (ecografici [ecografia premorfologica-genetic sonogram], biochimici [biochimica del II trimestre] o genetici [DNA libero fetale nel sangue materno]) allo scopo di migliorare la sensibilità del test. Tuttavia, non esiste al momento attuale uniformità di vedute su quale sia la migliore strategia da adottare in questi casi.

Che cosa significa translucenza nucale aumentata?

la translucenza nucale sopra i valori di riferimento non è di per sé una malformazione anatomica, ma piuttosto un marker ecografico che aumenta il rischio di diverse patologie tra cui la trisomia 21, ma anche altre anomalie cromosomiche, malformazioni congenite, sindromi genetiche, eccetera. Per tale motivo, nel caso di translucenza nucale aumentata sono indicati percorsi diagnostici specifici in centri con comprovata esperienza.

Nel caso di translucenza nucale aumentata, è indicata una consulenza specifica da parte di un esperto in diagnosi prenatale e un genetista in centri con comprovata esperienza, e qualora la donna lo desideri, sono indicati approfondimenti genetici diagnostici specifici, e controlli ecografici mirati.



RICERCA DI DNA FETALE LIBERO SU SANGUE MATERNO (NIPT – NON INVASIVE PRENATAL TESTING)

Che cosa è la ricerca del DNA fetale libero su sangue materno?

Negli ultimi anni stanno assumendo rilevante interesse i test non invasivi basati sulla ricerca del DNA fetale libero su sangue materno (cffDNA – cell free fetal DNA) basati sulla scoperta che una quota di DNA fetale, in realtà di origine placentare, passa nel circolo materno.

NIPT consiste nell'identificazione e successiva quantificazione di cffDNA che circola nel sangue materno. La presenza della parola "DNA fetale" può indurre all'erronea conclusione che il test abbia un valore diagnostico e non di screening. In realtà, ci sono due motivi principali per cui il NIPT non è un esame diagnostico:

1. Il cosiddetto DNA fetale proviene dallo strato più esterno della placenta potendo a volta verificarsi discrepanze tra i cromosomi della placenta e del feto;
2. Nonostante il test isoli il cffDNA presente nel sangue materno, la valutazione del rischio si basa sulla presenza di quantità in eccesso o in difetto del cffDNA rispetto a valori di riferimento e non sulla valutazione diretta del DNA.

Il NIPT è un esame di screening e non un esame diagnostico per le anomalie cromosomiche.

Quando si esegue NIPT?

Il test si può eseguire a partire dalla 10° settimana compiuta di gravidanza. Il risultato è disponibile dopo circa 7-10 giorni lavorativi dal prelievo del sangue. Al momento attuale, nella maggior parte delle realtà italiane, il test si può eseguire solo ad esclusivo carico della paziente, anche se alcune Regioni hanno introdotto o stanno valutando la sua introduzione in esenzione dalla partecipazione della paziente in caso di test combinato ad alto rischio e/o rischio intermedio.

In che cosa consiste il test?

Il test consiste in un prelievo sanguigno materno. Per la precocità e semplicità di esecuzione, si potrebbe eseguire NIPT prima dell'ecografia del I trimestre (11-13 settimane di gestazione) e della misura della translucenza nucale. Tuttavia, come indicato da tutte le Linee Guida delle maggiori Società Scientifiche, è fondamentale che il test venga preceduto da un'ecografia, possibilmente con la misurazione della translucenza nucale (pertanto tra la 11-13° settimana), e da una consulenza pre-test (Linee Guida Ministeriali sull'utilizzo di NIPT, Maggio 2015).

Quanto è attendibile il test?

Il NIPT attualmente rappresenta il più efficace Test di screening con una sensibilità, ossia la capacità di riconoscere un caso affetto da trisomia 21, superiore al 99% e un tasso di falsi positivi, cioè di casi risultati positivi al test che non sono di fatto affetti, inferiori allo 0.1% Risultati di poco inferiori sono stati riportati per le trisomie 18 e 13, mentre la performance del test è più bassa per le anomalie dei cromosomi sessuali.

Per essere affidabile il test deve prevedere la determinazione della frazione fetale, cioè la quantità di DNA fetale libero rilevata nel campione di plasma analizzato rispetto al DNA totale. In circa il 2% dei casi la frazione fetale risulta, per varie motivazioni (per esempio obesità), inferiore al limite stabilito dal laboratorio che esegue l'analisi. Ne consegue l'impossibilità di eseguire l'analisi e di fornire una stima del rischio.

Che cosa significa test positivo?

Il test definisce su base probabilistica la presenza di una anomalia dei cromosomi indagati, pertanto ogni risultato positivo deve poi essere confermato con una metodica di prelievo tradizionale (preferibilmente l'amniocentesi).

Che cosa significa test negativo?

Un risultato negativo deve essere considerato rassicurante circa l'assenza di una trisomia dei cromosomi indagati in considerazione dell'eccellente performance del test. Tuttavia tale risultato può rivelarsi falsamente normale in quanto il test fa riferimento alle caratteristiche genetiche della placenta che, in casi molto rari, possono discordare da quelle del feto.

Quali malattie possono essere indagate con NIPT?

Il test è stato validato ed è raccomandato da tutte le maggiori Società Scientifiche per stimare la probabilità che il feto sia o meno affetto dalle più comuni anomalie cromosomiche (trisomia 21, 13 e 18) e, eventualmente, dalle anomalie dei cromosomi sessuali. Tuttavia, alcune Aziende Ospedaliere propongono la ricerca di panel più o meno allargati di altre condizioni di anomalie genetiche (altri cromosomi, microdelezioni, microduplicazioni, malattie monogeniche). Per esempio, i più frequenti sono i panel di microdelezioni associate ad alcune sindromi clinicamente riconoscibili (ad es. delezione 22q11.21, delezione 1p36, delezione 5p, delezione 15q11) o di altre trisomie. Di fondamentale importanza è ricordare che il test è stato validato su un ampio numero di campioni solo per la trisomia 21, 13 e 18, per cui i risultati ottenuti per le altre anomalie cromosomiche o genetiche sono di dubbia attendibilità, per la scarsità dei casi testati. Inoltre, gli eventuali esiti positivi potrebbero risultare di difficile interpretazione per la varietà nella manifestazione clinica post-natale di alcune di queste sindromi, soprattutto se in assenza di altri segni ecografici.



**TEST
DIAGNOSTICI**

Gli esami di diagnosi prenatale invasiva, permettono di identificare o di escludere direttamente una condizione genetica, tra cui anche le anomalie del cariotipo fetale. Per la sua esecuzione è necessario eseguire una puntura sull'utero, sotto guida ecografica, per prelevare il materiale necessario per eseguire la diagnosi. L'esecuzione di questi esami, a differenza degli esami non invasivi, comporta un rischio di complicanze, identificati principalmente in un rischio di aborto (compreso tra 0.1 - 1%), mentre altri rischi per la madre e il feto, seppur possibili, sono di fatto estremamente rari. Pertanto, è opportuno che nel decidere l'esecuzione di questi esami la donna valuti con il suo medico di fiducia o un esperto in diagnosi prenatale il rapporto rischio/beneficio del singolo esame e quindi la sua indicazione.



Le procedure più comunemente utilizzate sono la villocentesi (prelievo di villi coriali) e l'amniocentesi (prelievo di liquido amniotico).

La villocentesi si effettua a partire dalla 10° alla 13° settimana di gravidanza e consiste nel prelievo di villi coriali dalla placenta.

L' amniocentesi si effettua a partire dalla 15° settimana di gravidanza e consiste nel prelievo di liquido amniotico in cui sono sospese cellule di desquamazione provenienti dal sacco amniotico e dal feto.

In entrambi i casi l'esame viene eseguito in regime ambulatoriale ed è preceduto da uno studio ecografico volto a valutare il battito cardiaco fetale e datare la gravidanza. Si esegue per via addominale e sotto costante guida ecografica. Dopo il prelievo viene controllata la presenza del battito cardiaco fetale e, dopo un breve periodo di osservazione (circa un'ora), la paziente può ritornare al proprio domicilio.

Si tratta di esami dolorosi?

La villocentesi e l'amniocentesi sono esami solitamente ben tollerati e, pertanto, non richiedono l'anestesia locale. La sensazione generalmente avvertita equivale a quella di una iniezione intramuscolare.

Quali sono i rischi connessi all'esecuzione della villocentesi e dell'amniocentesi?

Rischio di aborto: l'unico studio randomizzato del 1986 ha attribuito all'amniocentesi un rischio aggiuntivo di circa 1% di aborto. La letteratura più recente ha di molto ridimensionato tale rischio.

Rischi materni: estremamente rari. Il rischio di sepsi materna, con conseguenze a volte gravissime, è stimato in meno di un caso su 1.000 amniocentesi.

Rischi fetali: estremamente rari, e dopo l'introduzione dell'ecografia pressoché inesistenti.

Quali precauzioni è bene adottare prima della villocentesi o dell'amniocentesi?

Non sono richieste precauzioni né terapie mediche particolari. Le linee guida delle principali Società Scientifiche non raccomandano (SIEOG, SCOG) o non fanno alcuna menzione (RCOG, ACOG) sulla necessità di medicazione farmacologica di routine pre/post procedura prenatale invasiva. Non sono necessari il digiuno o il riempimento vescicale.

Quali esami sono necessari prima della villocentesi o dell'amniocentesi?

- Emogruppo, RH, Test di Coombs indiretto (recente in caso di pazienti Rh negative): alle gravide con fattore Rh negativo dopo l'indagine viene proposta la profilassi anti-D (somministrazione di immunoglobuline per via intra-muscolare).
- Esami infettivologici (Toxo Test, Rubeo Test, CMV, VDRL, TPHA, HbSAg, HIV e HCV): anche se le linee guida SIEOG 2015 riportano che non vi sono indicazioni ad effettuare uno screening infettivologico prima di eseguire la villocentesi o l'amniocentesi. Tuttavia, se la gestante è infetta e l'infezione è presente nel sangue materno, è possibile che l'infezione stessa passi dalla madre al feto a seguito del prelievo. Pertanto, si ritiene opportuno conoscere lo stato infettivologico per poter eseguire una consulenza adeguata e mettere in atto tutte le azioni preventive possibili.

Quali precauzioni è bene adottare dopo la villocentesi o l'amniocentesi?

Dopo il prelievo vengono generalmente consigliati 3-5 giorni di riposo relativo (non a letto) e, successivamente, la graduale ripresa delle proprie attività.

RIFERIMENTI UTILI:

Medicina Fetale e Diagnostica Prenatale

—

Dipartimento Materno Neonatale Ospedale di Villafranca di Verona ULSS9 Scaligera
Ambulatorio indagini pre-natali

NUMERI UTILI E RECAPITI:

Ambulatorio N.2

Telefono: 0456338249

Reception Ost/Gin

Telefono: 0456338756

Caposala Ost/Gin

marta.speri@aulss9.veneto.it

DIR. DELL'UNITA' OPERATIVA:

Dott. Marco Torrazzina

RESP. SERV. DI ECOGRAFIA E DIAGNOSI PRENATALE:

Dott.ssa Homira Sharifnejad Tousi