

I NUOVI ORIZZONTI DELLA DIAGNOSI PRENATALE

Giandomenico Palka, Paolo Guanciali Franchi, Irene Iezzi, Elisena Morizio,
Chiara Palka, Giuseppe Calabrese

Dipartimento di Scienze Biomediche, Sezione di Genetica Medica, Università "G. D'Annunzio", Chieti, Servizio di Genetica Medica, Ospedale Spirito Santo, Pescara

Indirizzo per corrispondenza: Prof. Giandomenico Palka

Via dei Vestini snc, 66100 Chieti (CH) Italia

tel: +39 08 54252641; fax: +39 08 54252643; e-mail: paolo.guanciali@tin.it

ABSTRACT

Until now, prenatal screening relied on the identification of women of advanced maternal age. This can identify only a part of fetuses with Down's syndrome by performing an amniocentesis on women ageing 35 years or more. Serum testing of all pregnant women would increase the number of affected pregnancies identified, reducing the number of amniocentesis and decreasing procedure-related fetal losses.

Key words: *triple test; prenatal diagnosis; chromosomal abnormalities.*

RIASSUNTO

A tutt'oggi il criterio di selezione delle gestanti da indirizzare alla diagnostica prenatale invasiva rimane l'età materna al di sopra dei 35 anni. Tale criterio permette però l'individuazione di solo una parte delle gravidanze affette da sindrome di Down. L'uso degli screening sierologici su sangue materno rende possibile individuare un maggior numero di gravidanze affette, coinvolgendo l'intera popolazione delle gravide, diminuendo il numero di diagnosi prenatali invasive e aumentando contemporaneamente il numero di patologie genetiche diagnosticate, con conseguente riduzione del numero dei feti abortiti e dei costi.

Parole chiave: *triple test; diagnosi prenatale; anomalie cromosomiche.*

La diagnosi prenatale consiste in un complesso di indagini strumentali e di laboratorio che servono a valutare lo stato di salute del feto durante il decorso della gravidanza.

Questo obiettivo è raggiunto attraverso analisi invasive e non invasive. Le prime sono di tipo diagnostico e comprendono la villocentesi, che si effettua nel primo trimestre di gravidanza e ha un rischio di abortività di circa il 2% (1-3); l'amniocentesi, che si effettua nel secondo trimestre di gravidanza e ha un rischio abortivo di circa l'1% (1-4); infine la funicolocentesi, che si effettua dopo la diciottesima settimana di gravidanza ed ha un rischio di perdita fetale di circa il 3% (4-5). A questo si deve aggiungere una quota di ulteriori perdite legate ad altre complicanze (3) e gli errori diagnostici che sono stimabili 1:200 casi per la villocentesi e 1:1000 per l'amniocentesi (6-7).

Le tecniche non invasive sono l'ecografia, i test sierologici su sangue materno e lo studio delle cellule fetali e del DNA fetale nel sangue materno. Queste ultime e in particolare lo studio del DNA fetale rappresentano una grande speranza ma al momento sono ancora a livello sperimentale e pertanto non possono essere usate a scopo diagnostico (8-9).

I test non invasivi sono tutti di tipo probabilistico, si effettuano nel primo e nel secondo trimestre di gravidanza e hanno in genere una detection rate (DR) di patologia genetica fetale, in particolare della sindrome di Down, molto elevata, pari all'80-90% (10-13).

Nella maggior parte dei Paesi, la diagnosi prenatale è regolamentata

da particolari leggi che in genere ne consigliano l'uso a tutte le donne gravide con età ≥ 35 anni, perché ad aumentato rischio di avere un figlio con una patologia cromosomica e in particolare con la sindrome di Down. Non mancano, comunque, eccezioni come la Francia che ne raccomanda l'uso solo alle gravide sopra i 38 anni (11). In realtà, consigliare la diagnosi prenatale sulla base dell'età della gestante sembra oggi anacronistico perché il rischio di una donna di 35 anni di avere un figlio con trisomia 21 è di 1:350 a termine. Questo rischio risulta molto più basso di quello dell'aborto dovuto alla invasività del test che è di 1:100 (1-4,14). Inoltre, negli ultimi anni sono state messe a punto analisi e indagini che sono più efficaci della sola età materna nel selezionare le donne con aumentato rischio di patologia cromosomica fetale (11-13). A questo si deve aggiungere che, relativamente alla trisomia 21, solo il 30-40% di feti affetti da Sindrome di Down nasce da donne con età ≥ 35 anni e che il numero di gravidanze in donne con più di 35 anni si aggira intorno al 15% (1, 13-14). Inoltre, dai risultati conseguiti in più di 30 anni di applicazione dell'amniocentesi, in cui la frequenza della sindrome di Down era valutata in 1:500-800 nati vivi (13-16), si evince che questa patologia non è diminuita in modo significativo poiché l'attuale prevalenza è stimata in circa 1:1000 nati vivi (17). Non si deve poi dimenticare che le trisomie 21 diagnosticate mediante amniocentesi sono 1 ogni 100-200 analisi (11, 14). Questo dato è anche confermato da i nostri dati relativi a 3319 amniocentesi effettuate su gravide con

età ≥ 35 anni, nelle quali abbiamo diagnosticato 30 feti con sindrome di Down (1:150 analisi). Da ciò emerge che, per diagnosticare un feto con Sindrome di Down, si perde almeno un bambino normale per effetto della invasività delle tecniche (1-5). In Italia, considerando il censimento della Società Italiana di Genetica Umana (SIGU) del 2004, si può stimare che, in base al numero di amniocentesi, che ammontano a più di 100.000 ogni anno, le perdite di bambini non portatori di patologia cromosomica sono più di 1000 (1, 18-19). L'applicazione sistematica dell'amniocentesi in donne con età ≥ 35 anni ha avuto, almeno nel nostro studio, l'effetto di diminuire la frequenza della trisomia 21 nelle province di Chieti e Pescara. Infatti, un'indagine relativa a 40272 nati nelle suddette province nel periodo 2000-2006, ha consentito di diagnosticare 78 feti con trisomia 21 (1:516 nati), di cui 30 in donne con età ≥ 35 anni che si erano sottoposte ad amniocentesi (40%), riducendo così la prevalenza della sindrome nelle due province a 1:719 nati vivi. Nonostante la positività di quest'ultimo dato, che comunque contiene la frequenza della sindrome entro i limiti nazionali e internazionali (13-16), è necessario cambiare strategia, adottando sistemi che coinvolgano tutta la popolazione delle gravide e che consentano di ridurre il numero di diagnosi prenatali invasive aumentando contemporaneamente il numero di patologie genetiche diagnosticate. Questo porterebbe ad una riduzione del numero dei feti abortiti e dei costi. In altre parole, si devono adottare sistemi che indirizzino verso la diagnosi prenatale invasiva solo le donne che hanno un rischio aumentato di patologia genetica fetale sulla base di analisi biochimiche e strumentali, che sono più sensibili dell'età materna.

La Regione Abruzzo, da circa 10 anni, sta seguendo questa via essendosi dotata di una legge regionale n. 124 del 29/4/1998 che garantisce la gratuità del tri-test (hCG, uE3, AFP) a tutte le gestanti che ne facciano richiesta e la gratuità dell'amniocentesi in casi di positività del test. In un periodo di 7 anni (2000-2006) abbiamo osservato che un numero sempre maggiore di donne con età ≥ 35 anni si è sottoposto in prima istanza ad una indagine non invasiva, passando da poco meno di 200 nel 2000 a quasi 600 nel 2006 (Fig. 1). Un secondo punto di eguale interesse riguarda il fatto che un nostro studio relativo a 17869 gravidanze a termine, ha comportato 1274 amniocentesi per positività al tri-test invece delle 4060 attese, quante erano le donne con età ≥ 35 anni presenti nel campione, che avrebbero potuto sottoporsi all'amniocentesi in accordo alla legge

nazionale sulla tutela materno-infantile. Questi risultati sono in linea con alcuni dati europei piuttosto che con quelli nazionali (1). Infatti, in Inghilterra si sottopongono alla diagnosi prenatale invasiva 1:20 gestanti (5%) (1, 20), in Italia 1:5 gravide (20%) (1) e, nel nostro studio, 1:15 gravide (6,7%) (13). Dai risultati del nostro studio emerge che le donne gravide, a prescindere dall'età, se adeguatamente informate sulla diagnosi prenatale, scelgono in prima istanza di sottoporsi ad indagini non invasive piuttosto che invasive. Un terzo punto importante riguarda il sistema che, se correttamente usato, può raggiungere lo scopo di ridurre il numero di amniocentesi, realizzando l'obiettivo della diminuzione della perdita dei feti normali e dei costi. Infatti, il nostro studio ha comportato una riduzione di 2786 amniocentesi con di più di 20 bambini non abortiti e un risparmio di più di 700.000 euro, considerando che il costo di una analisi per il nostro sistema sanitario nazionale è di circa 250 euro (13). Infine, il quarto punto importante riguarda il fatto che i test sierologici, come auspicato, aumentano il numero di diagnosi di patologie cromosomiche fetali. Nel nostro studio abbiamo diagnosticato complessivamente 63 patologie genetiche (1:20 test), di cui 32 Sindromi di Down corrispondenti a 1:39 test positivi, con una quota di falsi positivi del 6,7% (12). La diagnosi del 5% di patologia genetica fetale e quasi del 3% di trisomia 21 ottenuta con il tri-test è significativamente maggiore di quella che si ottiene con il criterio della sola età materna che è dello 0,5-1% (1, 11). I falsi negativi complessivamente sono stati 8, di cui 3 in donne con età maggiore 35 anni, corrispondenti complessivamente a 1:2233 test. Anche questo dato ci sembra estremamente importante perché questo indice di errore è inferiore a quello che viene indicato per l'amniocentesi che, come già ricordato, è di 1:1000 (3, 6, 7).

A questi risultati, molto significativi, si stanno aggiungendo quelli relativi a nuovi sistemi ancora più stringenti che stanno comparando all'orizzonte e che si stanno rivelando più efficaci di quelli esistenti nel selezionare le donne da avviare alla diagnosi prenatale (21). Ci riferiamo ai test sequenziali e integrati, i cui risultati presenti in letteratura, se pur esigui, sembrano indicare che possano essere migliori di quelli relativi al bi-test e al tri-test (22, 23). In proposito, nel nostro Centro di Genetica presso l'Ospedale Civile di Pescara, da più di un anno abbiamo iniziato a consigliare alle gravide un test sequenziale sul modello di quello proposto da Malone et al. e da Benn et al. con alcune modifiche (21-23). Il test sequenziale abbina i risultati ecografici con quelli sierologici del

primo e del secondo trimestre. In particolare, in accordo con il ginecologo di fiducia, consigliamo alla gestante una ecografia tra la 10 e la 12 settimana di gravidanza con la valutazione della lunghezza cervico-sacrale (CRL) e della translucenza nucale (TN) cui facciamo seguire tra la 12 e la 13 settimana l'effettuazione del bi-test (PAPP-A e Free-Beta-hCG); tra 14 e 15 settimane l'utente ripete una ulteriore ecografia con valutazione di altri parametri quali: il diametro biparietale (DBP), la circonferenza cranica (CC), la circonferenza addominale (CA), la lunghezza dell'omero (LO) e del femore (LF), cui facciamo seguire tra 15 e 16 settimane di gravidanza l'effettuazione del tri-test. L'utente avrà un unico risultato che sarà

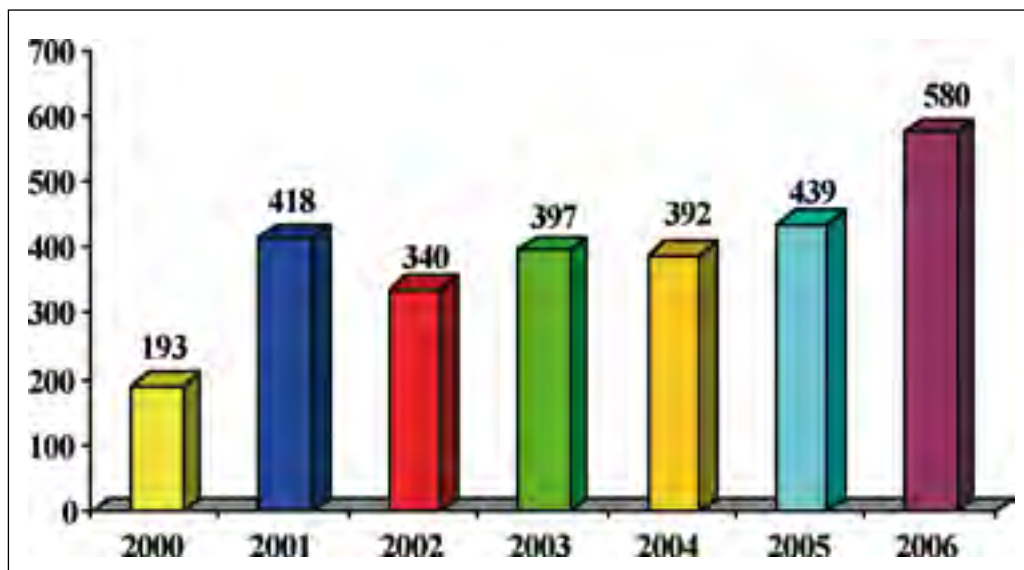


Figura 1. Donne con età ≥ 35 anni sottoposte al tri-test dal 2000 al 2006.

positivo o negativo in accordo al cut off di 1:250. Abbiamo inserito come novità una ecografia nel secondo trimestre di gravidanza, perché un nostro studio aveva dimostrato che in presenza di un valore di hCG \geq di 2.5MoM e di un marcatore ecografico, i rischi di aneuploidia fetale erano particolarmente elevati per le donne con età < 35 anni con tri-test negativo (24).

I primi risultati del test sequenziale relativi ad 800 gravidanze a termine indicano che viene diagnosticato un feto affetto da trisomia 21 ogni 5 test positivi, i falsi positivi sono il 4,3% e la DR di patologia genetica fetale è pari al 99%, poiché non si sono avuti al momento falsi negativi.

I nostri risultati, seppure ottenuti da una casistica limitata, concordano con quanto riportato da Malone et al. e da Benn et al. (21, 23) per quanto riguarda la DR (95%) e il tasso di falsi positivi (3,9%). Nella casistica di Benn et al., si ha un vero positivo per trisomia 21 ogni 20 test positivi rispetto al risultato di 1:5 da noi ottenuto (23). Se questi risultati verranno confermati su una casistica più ampia, avremo la certezza di disporre di un sistema multiparametrico più efficace di quelli esistenti in grado di ridurre il numero di amniocentesi di oltre il 75%, che renderà questa tecnica invasiva più accettabile sul piano etico-morale oltretutto su quello economico

BIBLIOGRAFIA

1. Nicolini U, Lalatta F, Natacci F et al. *The introduction of QF-PCR in prenatal diagnosis of fetal aneuploidies: time for reconsideration. Hum Reprod Update* 2004; 10: 541-8
2. Caughey AB, Hopkins LM, Norton ME. *Chorionic villus sampling compared with amniocentesis and the difference in the rate of pregnancy loss. Obstet Gynecol* 2006;108: 612-6
3. Los FJ, van Den Berg C, Wildschut HI et al. *The diagnostic performance of cytogenetic investigation in amniotic fluid cells and chorionic villi. Prenat Diagn* 2001; 21: 1150-8
4. Dugoff L, Hobbins JC. *Invasive procedures to evaluate the fetus. Clin Obstet Gynecol* 2002; 45: 1039-53
5. Weiner CP, Okamura K. *Diagnostic fetal blood sampling-technique related losses. Fetal Diagn Ther* 1996; 11: 9-175
6. Hsu LYF. *Prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities through amniocentesis. In Milunsky A ed. Genetic Disorders and the Fetus Diagnosis, prevention and treatment. 3rd edn. John Hopkins University Press. Baltimore, 1992: 155-63*
7. Griffiths MJ, Miller PR, Stibbr HM. *A false-positive diagnosis of Turner syndrome by amniocentesis. Prenat Diagn* 1996; 16: 463-6
8. Bischoff FZ, Lewis DE, Simpson JL. *Cell-free fetal DNA in maternal blood: kinetics, source and structure. Hum Reprod Update* 2005; 11: 59-67
9. Simpson JL, Bischoff FZ. *Cell-free fetal DNA in maternal blood: evolving clinical applications. JAMA* 2004; 291:1135-7
10. Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW et al. *Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy. BMJ* 1988; 297: 883-7
11. Muller F, Forestier F, Digeon B; ABA Study Group. *Second trimester trisomy 21 maternal serum marker screening. Results of a countrywide study of 854,902 patients. Prenat Diagn* 2002; 22: 925-9.
12. Palka G, Guanciali Franchi P, Papponetti M et al. *Prenatal diagnosis using the triple test. Minerva Ginecol.* 1998; 50: 411-5
13. Guanciali Franchi P, Iezzi I, Celentano C, Palka C et al. *Screening biochimici prenatali: l'esperienza del tri-test in 17.869 gravidanze della Regione Abruzzo. Riv It Ost Gin* 2007; 13: 635-8
14. Nicolaides I. *Screening for chromosomal defects. Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; 21: 313-21
15. Hook EB, Chambers GM. *Estimate rates of Down Syndrome in live births by one year interval for mother aged 20-49 in a New York State study-implications of the risk figures for genetic counselling and cost-benefit analysis of prenatal diagnosis. Birth Defects Original Series* 1977; XIII: 123-41
16. Palka G, Annibale D, Peca S et al. *Relazione tra età materna e frequenza della sindrome di Down. Ped Prev Soc.* 1987; 37: 25-9
17. Roizen NT, Patterson D. *Down's syndrome. Lancet* 2003; 361: 1281-9
18. S.I.Di.P. *Linee guida sullo screening prenatale delle aneuploidie fetali. n. 3; Ottobre 2006*
19. *Censimento SIGU 2004. Strutture di Genetica Medica in Italia. Analysis* 6/7/2006
20. Hultén MA, Dhanjal S, Pertl B. *Rapid and simple prenatal diagnosis of common chromosome disorders: advantages and disadvantages of the molecular methods FISH and QF-PCR. Reproduction* 2003; 126: 279-97
21. Malone FD, Canick JA, Ball RH et al. *First- and Second-Trimester Evaluation of Risk (FASTER) Research Consortium. First-trimester or second-trimester screening, or both, for Down's syndrome. N Engl J Med* 2005; 353: 2001-11
22. Malone F. *Sequential pathways of testing after first-trimester screening for trisomy 21. Obstet Gynecol* 2005; 105: 438
23. Benn P, Donnenfeld AE. *Sequential Down syndrome screening: the importance of first and second trimester test correlation when calculating risk. J Genet Couns* 2005; 14: 409-13
24. Celentano C, Guanciali-Franchi PE, Liberati M et al. *Lack of correlation between elevated maternal serum hCG during second-trimester biochemical screening and fetal congenital anomaly. Prenat Diagn* 2005; 25: 220-2