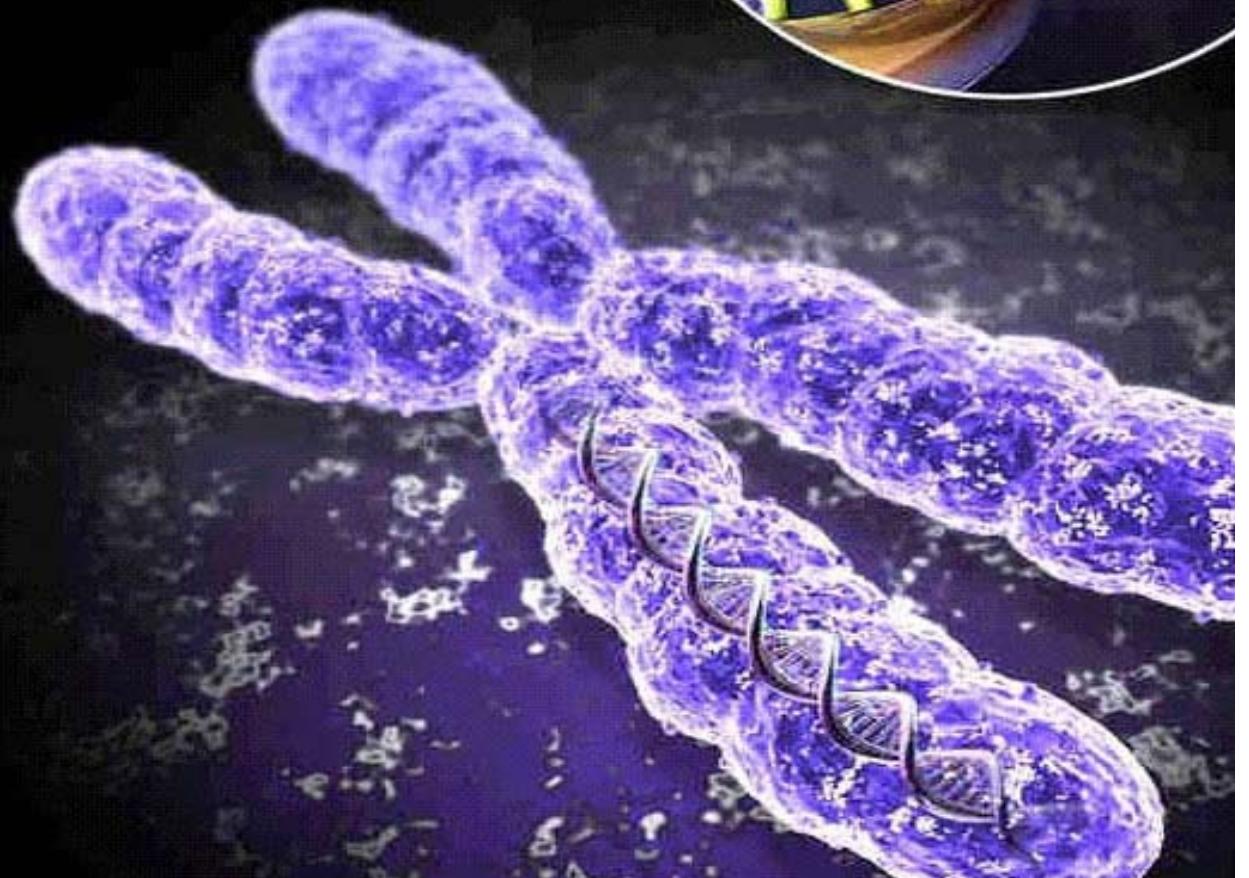


LA DIAGNOSI PRENATALE

Paola Grammatico



DIAGNOSI PRENATALE



Insieme di tecniche strumentali e di laboratorio finalizzate alla identificazione di patologie prima della nascita

Principi che devono guidare la diagnosi prenatale



- **Gravità della malattia di cui si esegue la diagnosi**
- **Assenza di un efficace trattamento terapeutico**
- **Accettabilità della interruzione di gravidanza**
- **Disponibilità di un test prenatale accurato**
- **Presenza di un rischio riproduttivo definito ed elevato per la gravidanza**

Caratteristiche della diagnosi prenatale



La d.p. viene effettuata non sulla persona che ne fa richiesta, bensì su un soggetto che, nella attuale legislazione, non ha riconoscimento giuridico (Comitato Nazionale per la Bioetica 1992)

Caratteristiche della diagnosi prenatale



La d.p., in considerazione dell'epoca in cui si effettuano le indagini, non permette di correlare in tempo reale il fenotipo con il genotipo, pertanto in alcuni casi (es. malformazioni evidenziate ecograficamente) non è possibile formulare una precisa diagnosi

Caratteristiche della diagnosi prenatale



Qualora vengano applicate indagini genetiche è possibile identificare la specifica mutazione (es. anomalia cromosomica, mutazione genica, ecc.) e quindi il test ha un valore diagnostico anche se il fenotipo potrà essere verificato solo al momento della nascita a termine o dopo interruzione volontaria della gravidanza

Caratteristiche della diagnosi prenatale



**Nelle patologie ad insorgenza tardiva
(es. malattia di Huntington, distrofia
miotonica ecc.) il test genetico si
configura tra quelli di tipo
presintomatico**

Caratteristiche della diagnosi prenatale



La d.p. deve essere eseguita entro tempi molto più brevi rispetto al periodo post-natale.

Caratteristiche della diagnosi prenatale



Molto spesso la diagnosi di feto affetto si basa sul referto di un solo test genetico e su questa unica informazione la coppia deve scegliere se continuare o interrompere la gravidanza

Caratteristiche della diagnosi prenatale



La coppia deve essere informata dei rischi e deve ricevere indicazioni appropriate nell'ambito di una consulenza genetica offerta prima e dopo l'indagine

Caratteristiche della diagnosi prenatale



La d.p. consente alle coppie a rischio di realizzare il progetto di famiglia attraverso scelte procreative consapevoli

Principi etici da rispettare nell'ambito della diagnosi prenatale



- **Autonomia della madre e della coppia**
- **Beneficio nei confronti dei genitori e del feto**
- **Rispetto della normativa vigente**



DIAGNOSI PRENATALE

Tecniche non invasive

Ultrasuoni

Periodo ottimale 16-20 settimane

Diagnosi difetti strutturali feto

Valutazione placenta e liquido amniotico.



DIAGNOSI PRENATALE

Tecniche non invasive

Screening su siero materno

Beta HCG

Alfa fetoproteina

Triplo test

Estriolo

Diagnosi sulle cellule fetali nel circolo materno

DIAGNOSI PRENATALE



Tecniche invasive

Villocentesi

Amniocentesi

Cordocentesi

Fetoscopia

Villocentesi



Entrata nella pratica clinica nel 1984-85

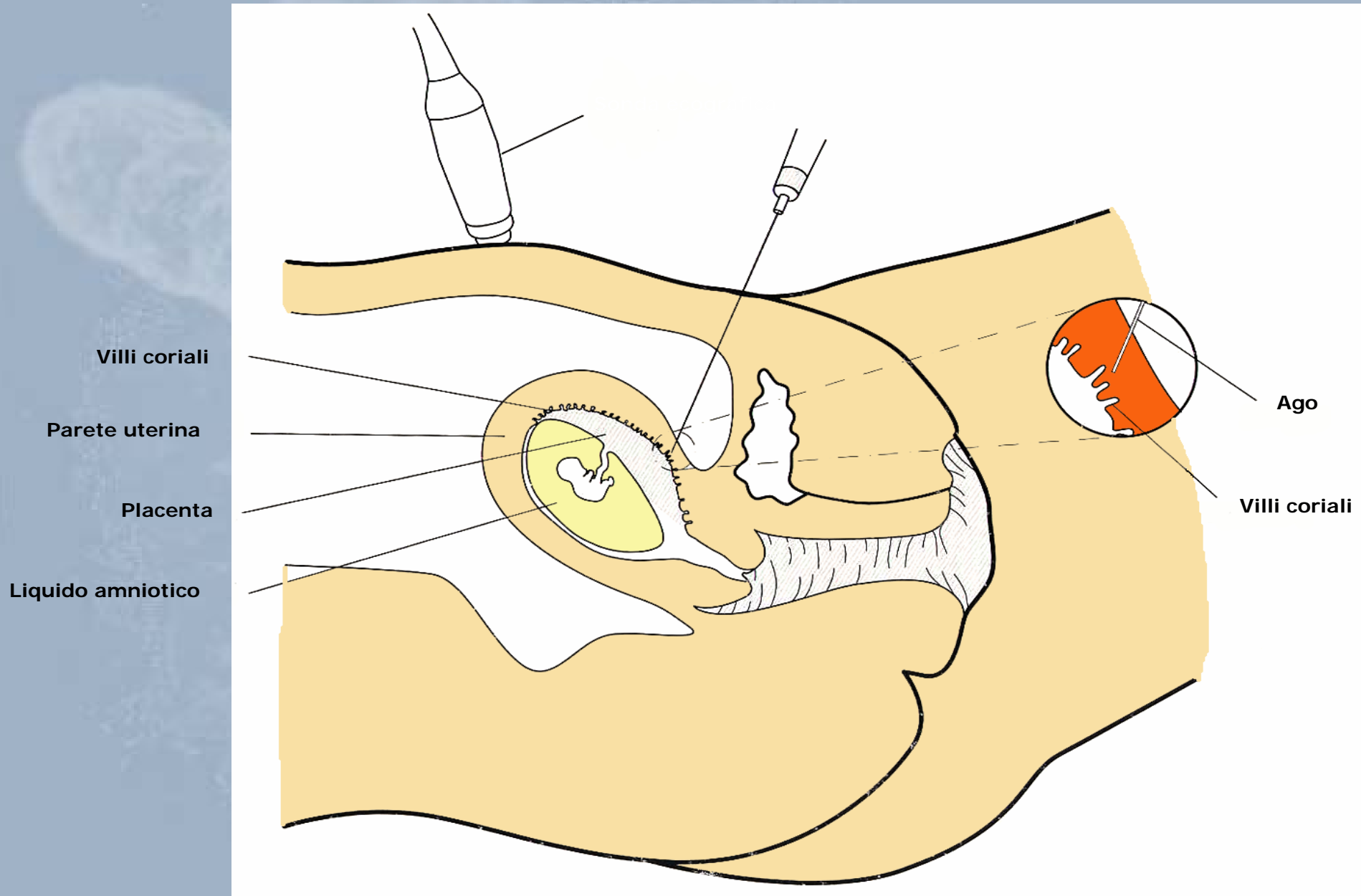
Tecnica di elezione per la diagnosi prenatale di malattie geniche

Puntura transaddominale o transvaginale mediante ago da spinale (20G) sotto controllo ecografico

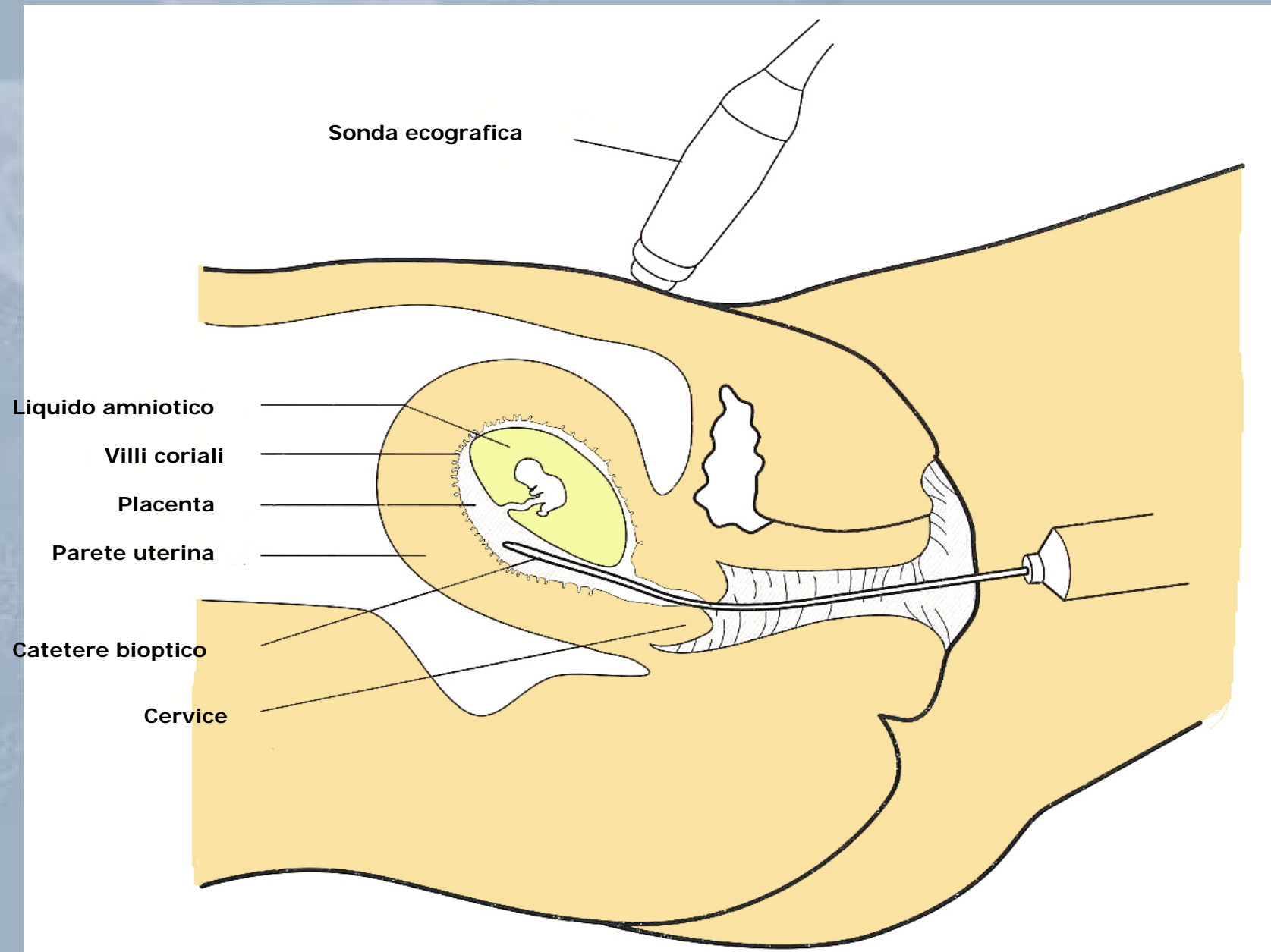
Periodo ottimale 10-12 settimane (può essere eseguito anche nel II e III trimestre di gravidanza)

Prelievo di tessuto trofoblastico (villi coriali)

PRELIEVO TRANSADDOMINALE DI VILLI CORIALI



PRELIEVO TRANSCERVICALE DI VILLI CORIALI



Complicanze della villocentesi



Perdita fetale: se eseguita da operatori esperti in centri di II livello il rischio è circa 1,5%.

Ipogenesia oromandibolare e difetti trasversi degli arti: sono stati segnalati in neonati di madri sottoposte a prelievo di villi coriali nelle fasi precoci della gravidanza (6-8 s.g.); è sconsigliato eseguire il prelievo prima della 10° settimana, prima cioè che siano terminati i processi di embriogenesi.

Complicanze della villocentesi



Episodi di spotting: possono verificarsi dopo il prelievo ma raramente rappresentano un vero segnale di allarme

Alloimmunizzazione Rh in pazienti Rh negative: le indicazioni alla profilassi sono le stesse date per l'amniocentesi.

Cellule fetali utili per la diagnosi prenatale mediante villocentesi



- **Citotrofoblasto:** parte esterna del villo, contiene cellule in mitosi spontanea, vengono utilizzate per l'indagine diretta o per la coltura a breve termine
- **Mesenchima:** parte interna del villo, vengono utilizzate per la coltura a lungo termine

Cellule fetali utili per la diagnosi prenatale mediante villocentesi

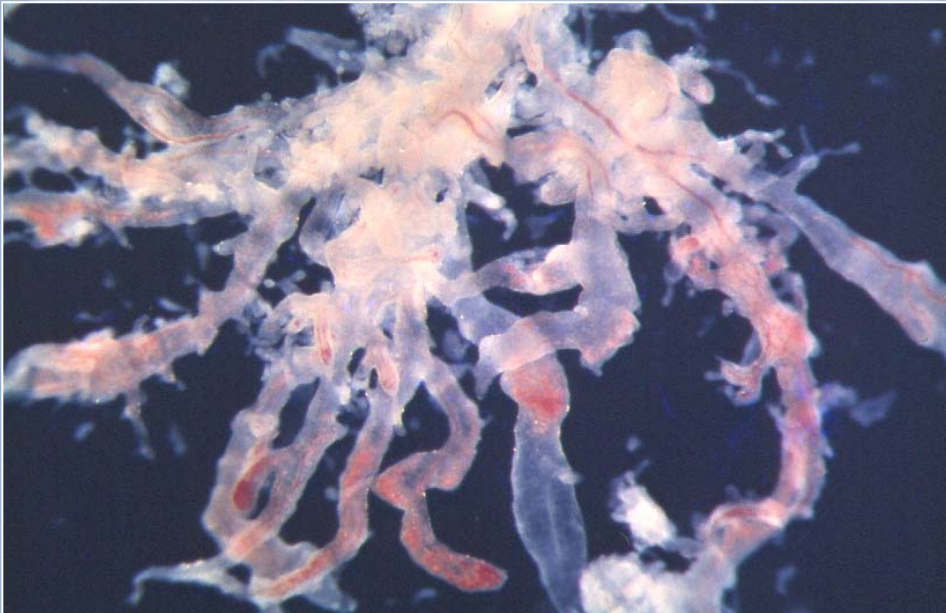


L'utilizzo contemporaneo delle due metodiche (diretta e dopo coltura) riduce i falsi positivi/negativi all'1-2%

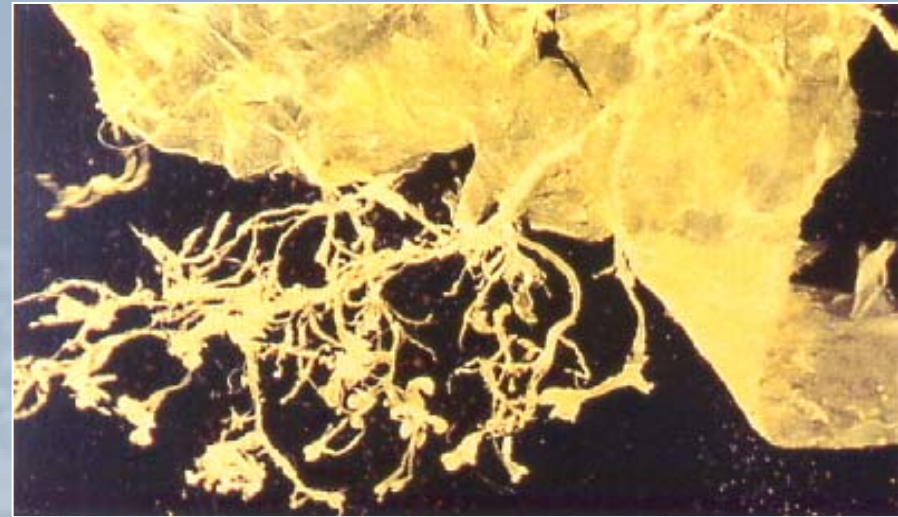
I villi possono comunque contenere cellule materne derivate dalla decidua che, se non riconosciute ed isolate mediante osservazione al microscopio invertito, possono essere alla base di errori diagnostici a causa di contaminazione materna

VILLI CORIALI

normale



trisomia 10



triploidia



Amniocentesi



E' stata la prima tecnica di diagnosi prenatale introdotta nella pratica clinica ed è tuttora la più utilizzata

Periodo ottimale 15-17 settimane (quantità di liquido amniotico 20 ml)

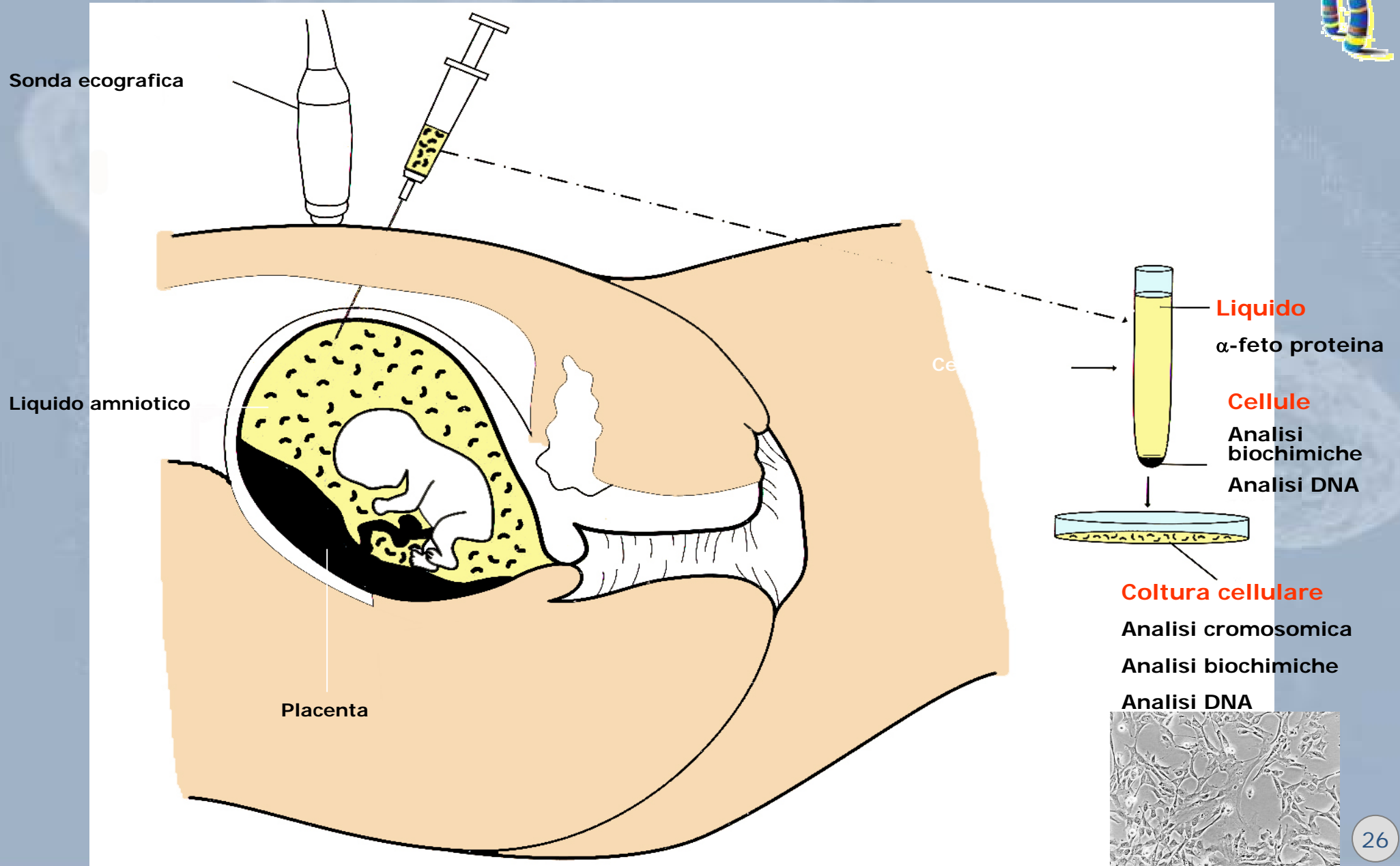
Amniocentesi



Prelievo (15-20 ml) transaddominale con un ago da spinale (20G) sotto continuo controllo ecografico

L'unica impossibilità alla esecuzione del prelievo di liquido amniotico è l'anidramnios; in questo caso si procede alla villocentesi tardiva

DIAGNOSI PRENATALE MEDIANTE AMNIOCENTESI



Amniocentesi



Tecnica di elezione per la diagnosi citogenetica (parte corpuscolata) e dosaggio alfa fetoproteina (parte non corpuscolata)

Rischio aborto 0,5%, tempi di risposta 12-20 giorni

Complicanze della amniocentesi



Perdita fetale: pari allo 0,5-1%

Perdite di liquido amniotico: frequenti ma spesso transitorie e di scarso significato clinico

Alloimmunizzazione Rh in pazienti Rh negative, non sensibilizzate, con partner Rh positivo è necessario somministrare globuline anti-D dopo la procedura

Contaminazione batterica o inquinamento ematico massivo possono determinare il fallimento della coltura cellulare e costituiscono motivo di ripetizione dell'esame.

Cordocentesi



Consiste in un prelievo di sangue fetale eseguito mediante ago introdotto per via transaddominale sotto continua guida ecografica.

Si esegue dalla 20 settimana di gravidanza fino al termine

Il prelievo può essere eseguito all'inserzione placentare del funicolo o nel tratto intraepatico della vena ombelicale

Cordocentesi: indicazioni



- Indagini citogenetiche urgenti
- Tardivo riscontro di malformazioni fetali
- Verifica mosaicismi riscontrati in amniocentesi
- Sospette infezioni fetali
- Gravi ritardi di crescita
- Disturbi metabolici

Fetoscopia



Periodo ottimale dopo 18 sett

Tessuto fetale (cute, fegato)

Visualizzazione diretta feto e prelievo tessuto con endoscopio

Diagnosi genodermatosi, difetti enzimatici tessuto-specifici

Applicazioni limitate dopo la identificazione dei geni coinvolti

Rischio complicanze > cordocentesi

CAUSE COMUNI DI MALFORMAZIONI FETALI

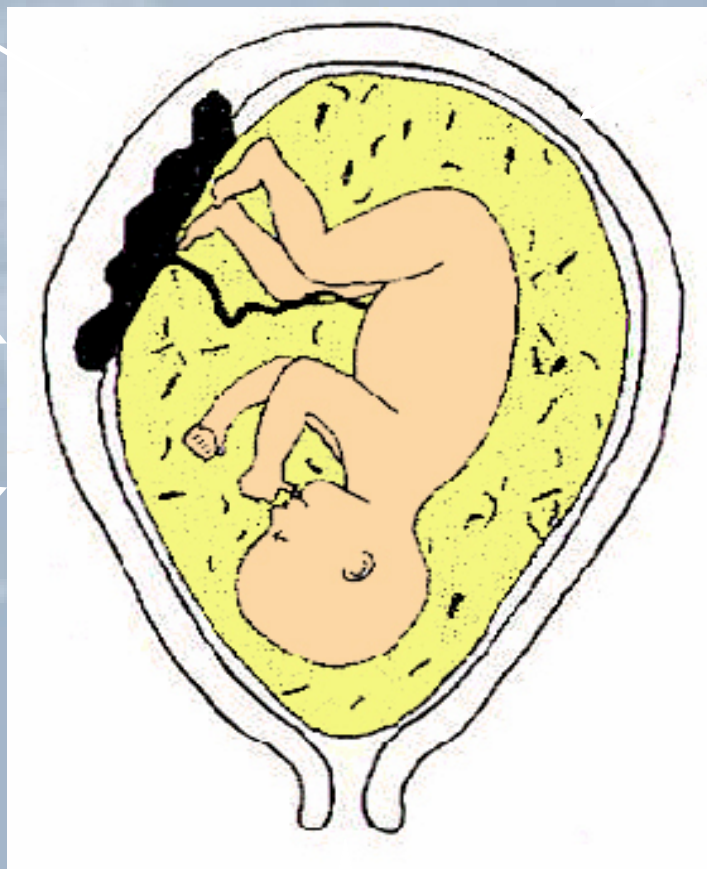


FATTORI FISICI
bande amniotiche
compressioni

RADIAZIONI

FATTORI CHIMICI

**SOSTANZE
TERATOGENE**
alcool
cocaina
sigarette
fenitoina
talidomide
ac. retinoico
ac. valproico
anticoagulanti



INFEZIONI
rosolia
sifilide
herpes virus
toxoplasmosi
citomegalovirus
parvovirus
AIDS

GENETICHE



DIAGNOSI PRENATALE PER PATOLOGIE GENETICHE

PATOLOGIE CROMOSOMICHE

PATOLOGIE GENICHE

DIFETTI DEL TUBO NEURALE

INDICAZIONI ALL'ANALISI CITOGENETICA PRENATALE PER LA IDENTIFICAZIONE DI PATOLOGIE CROMOSOMICHE



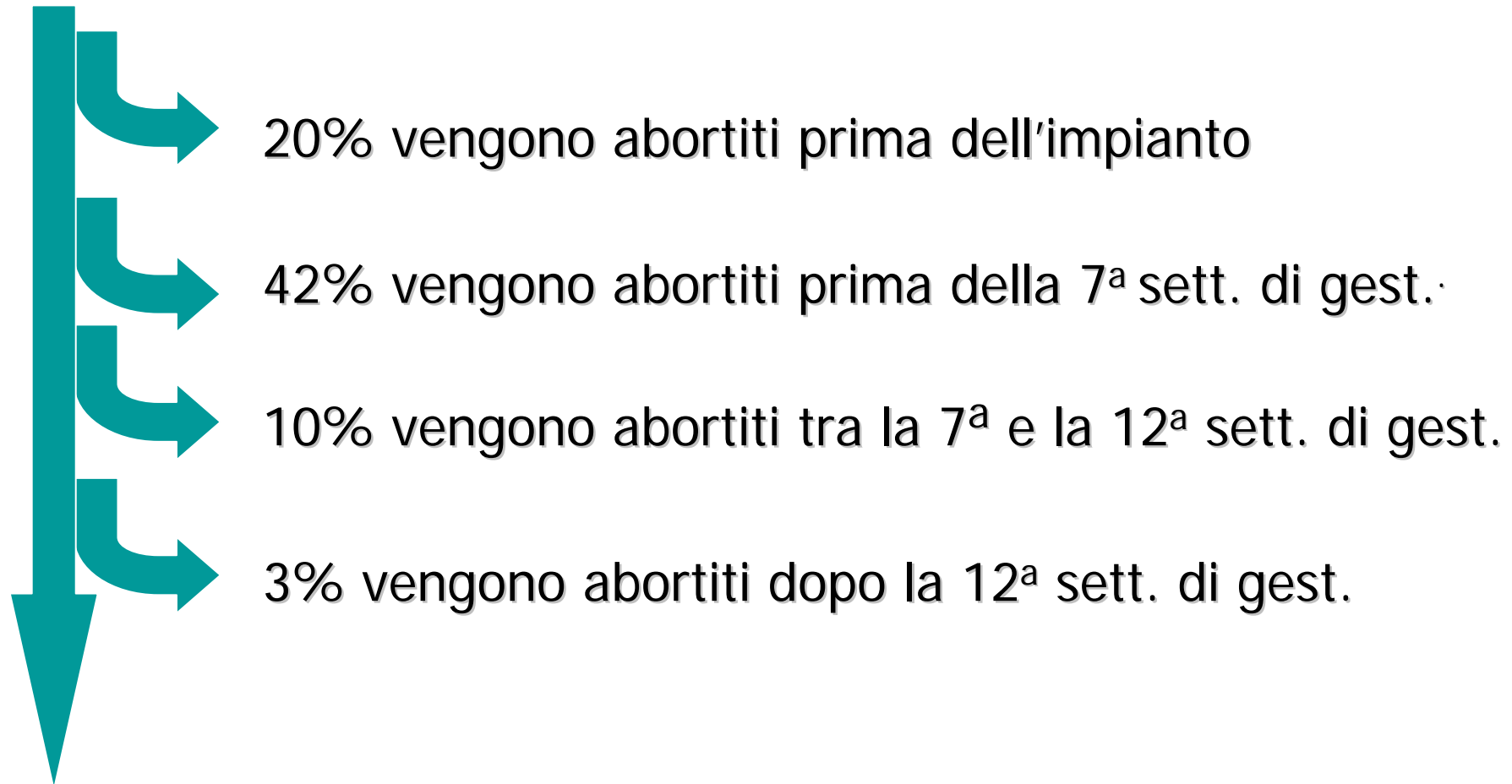
- * **Età materna avanzata = > 35 anni**
(l'aumento del rischio di aneuploidie cromosomiche correla con l'età materna)
- * **Genitori con precedente figlio affetto da aneuploidia**
(rischio di ricorrenza circa 1%)
- * **Genitori eterozigoti per anomalie cromosomiche bilanciate**
(aumento del rischio di concepimenti sbilanciati) coniugato predicono nel Triplo-test il 70% delle gravidanze con feto affetto da trisomia 21)
- * **Evidenza ecografica di malformazioni fetali**
(circa il 20% di questi feti è sbilanciato)
- * **Alterazioni biochimiche nella madre**
(aumento dei valori di gonadotropina corionica, riduzione dell'alfa-fetoproteina e dell'estriolo non coniugato predicono nel Triplo-test il 70% delle gravidanze con feto affetto da trisomia 21)

Rischio di sbilanciamento cromosomico in rapporto all'età materna alla nascita



Età materna	Rischio	Età materna	Rischio
15	1/1859	31	1/459
16	1/1789	32	1/392
17	1/1712	33	1/332
18	1/1631	34	1/278
19	1/1546	35	1/230
20	1/1456	36	1/172
21	1/1361	37	1/188
22	1/1264	38	1/153
23	1/1167	39	1/97
24	1/1070	40	1/76
25	1/972	41	1/59
26	1/876	42	1/45
27	1/784	43	1/34
28	1/695	44	1/25
29	1/611	45	1/19
30	1/532	46	1/14

Trisomia 21



NASCITA solo il 25% dei concepiti arrivano alla nascita

XXY



- ◆ La sterilità è certa
- ◆ Pene e scroto normali; è aumentata la frequenza di criptorchidismo
- ◆ Testicoli ridotti di volume nella vita adulta (4-6 ml, vs >12 ml)
- ◆ Pubertà in epoca normale
- ◆ Ginecomastia transitoria nella metà dei casi; raramente richiede un trattamento
- ◆ Può essere utile la terapia sostitutiva con androgeni (dai 12 anni, *Winter BDOAS 26, 235-45, 1990*), per accentuare i caratteri somatici maschili, aumentare la libido, l'autostima, la capacità di concentrazione e la vitalità
- ◆ Q.I. ridotto mediamente di 10-15 punti
- ◆ Segnalata difficoltà nell'espressione verbale e nella lettura
- ◆ Sono definiti dagli psicologi timidi, immaturi, sottomessi, riservati



XXX

- ◆ Sviluppo fisico normale
- ◆ Statura più elevata che di norma
- ◆ Sviluppo puberale e fertilità normali
- ◆ Q.I. ridotto mediamente di 20 punti (*Bender, Am J Med Genet 48, 169-73, 1993*)
- ◆ Lieve alterazione nei movimenti fini e grossolani
- ◆ Uso del linguaggio ed espressione verbale compromessa in oltre la metà dei casi
- ◆ Possibile un ritardo nell'apprendimento (può essere utile un supporto appropriato)
- ◆ Comportamento normale
- ◆ Rapporti interpersonali occasionalmente difficili
- ◆ Vulnerabilità allo stress

"We continue to receive positive reports from parents of young 47,XXX daughters who were diagnosed prenatally"
(*Robinson,*



XYY

- ◆ Aumento della statura (in media 182 cm)
- ◆ Sviluppo sessuale e fertilità normali
- ◆ Q.I. nel *range* normale, ma più basso rispetto a fratelli o ai controlli
- ◆ Possibili problemi nell'adattamento psicosociale, con eventuali atteggiamenti aggressivi nei confronti dei coetanei

"The functioning of the family may be as much an ingredient as the karyotype in psychosocial development" Gardner & Sutherland, 1996)



- Interruzione lezione



POLISOMIE DEI CROMOSOMI SESSUALI XXXX, XXXY, XXYY, XYYYY, XXXXX, XXXXY, XXYYY; XYYYY

- ◆ Ritardo psicomotorio fino al ritardo mentale medio-grave
- ◆ Anomalie del comportamento
- ◆ Dismorfismi
- ◆ Ipogonadismo grave nelle forme con Y



MOSAICISMO XX/XY

- ◆ Di solito è uno pseudomosaicismo (contaminazione materna in una gravidanza 46,XY; *Worton e Stern Prenat Diagn 4, 131-144, 1984*).
- ◆ Non documentabile in una gravidanza 46,XX
- ◆ Il mosaicismo XX/XY, di livello III (con elevata percentuale di cellule XX) si associa di solito ad una femmina 46,XX normale (l'origine della linea XY non è nota, forse da un *vanishing twin*)
- ◆ Importante e dirimente l'analisi ecografica dei genitali esterni



MOSAICISMO X/XY

- ◆ Nella vita post-natale il fenotipo è variabile tra una femmina con fenotipo Turneriano, ad un neonato con genitali ambigui, ad un maschio sterile
- ◆ Nella vita fetale la maggior parte dei feti con questa diagnosi (>95%) sono maschi normali (*Hsu Prenat Diagn 9, 31-48, 1989; Chang et al., Am J Hum Genet 46, 156-167, 1990*)
- ◆ *"The 10% risk of an abnormal outcome still deserves much of our attention"*
- ◆ Importante il monitoraggio ecografico del feto
- ◆ Non sono disponibili dati sullo sviluppo dei maschi con questa diagnosi nella vita fetale oltre i 4 anni (lo sviluppo fenotipico di alcuni pazienti è risultato normale, ma non è noto né il rischio di neoplasia, né la fertilità)
- ◆ Origine placentale della linea 45,X; persistenza del mosaicismo nella vita postnatale in alcuni casi (evidenza di eterogeneità)



TRISOMIA 20

- ◆ E' di solito contribuito dagli amniociti, e il feto ha un cariotipo normale
- ◆ Può occasionalmente essere un mosaicismo vero, associato ad un fenotipo normale
- ◆ Raramente il mosaicismo causa difetti (*Hsu et al., Prenat Diagn 11, 7-15, 1991; Brothman et al., Clin Genet 42, 47-49, 1992*)
- ◆ E' stato affermato, ma non confermato, che il rischio di patologia sarebbe legato alla presenza della linea aneuploide in >60% delle cellule
- ◆ Non è di regola utile la cordocentesi



TRASLOCAZIONI *DE NOVO*

- ◆ Difficoltà (impossibilità) a definire se il riarrangiamento sia realmente bilanciato (questa di solito è la regola)
- ◆ Nella vita postnatale la presenza di un fenotipo normale suggerisce un'anomalia bilanciata
- ◆ Frequenza delle traslocazioni *de novo*: 1/2.000 amniocentesi; 1/9.000 amniocentesi quelle robertsoniane; 1/10.000 le inversioni
- ◆ Possibili meccanismi alla base di un effetto fenotipico:
 - delezione
 - duplicazione
 - rottura di un gene
 - effetto di posizione



TRASLOCAZIONI RECIPROCHE *DE NOVO*

- ◆ Rischio medio di patologia alla nascita 6,1%
- ◆ Confrontare il rischio con il 3% del rischio di specie
- ◆ La normalità del quadro ecografico (pressochè la regola) è importante, ma non è definitivamente rassicurante (cerebropatia)
- ◆ Il rischio è probabilmente più elevato nelle traslocazioni complesse (coinvolgimento di più cromosomi) *de novo* (fino a 50%? *Sikkema-Raddatz et al. Prenat Diagn 15, 467-73, 1995*)
- ◆ Nelle traslocazioni X/Autosomiche rischio di amenorrea per rotture tra Xq21-Xq26; rischio di patologia mendeliana nelle traslocazioni in Xp (analizzare il *pattern* di inattivazione)
- ◆ Nelle traslocazioni dell'Yq sul braccio corto di un acrocentrico è atteso un fenotipo normale; rischio di infertilità per le altre traslocazioni Y/Autosomiche



TRASLOCAZIONI ROBERTSONIANE *DE NOVO*

- ◆ rischio aggiuntivo di patologia alla nascita è piccolo (massimo 1%)
- ◆ Questo rischio è probabilmente riconducibile alla disomia uniparentale
- ◆ Dubbia l'utilità dell'analisi molecolare per monitorizzare i rari casi di disomia
- ◆ In caso di coinvolgimento del cromosoma 15, analizzare la presenza della regione PWS
- ◆ Consulenza di solito ottimistica, dato che il riarrangiamento tende a non coinvolgere sequenze uniche

DIAGNOSI PRENATALE MALATTIE GENICHE



Indagini di genetica molecolare

Tessuto di elezione trofoblasto
(tecnica villocentesi)

Famiglie, coppie o individui studiati
prima del concepimento

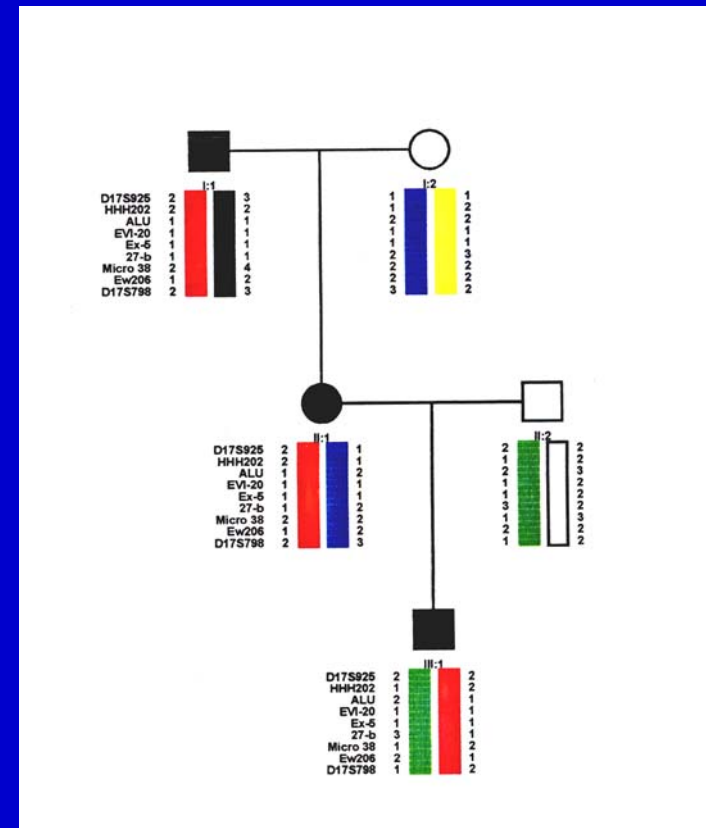
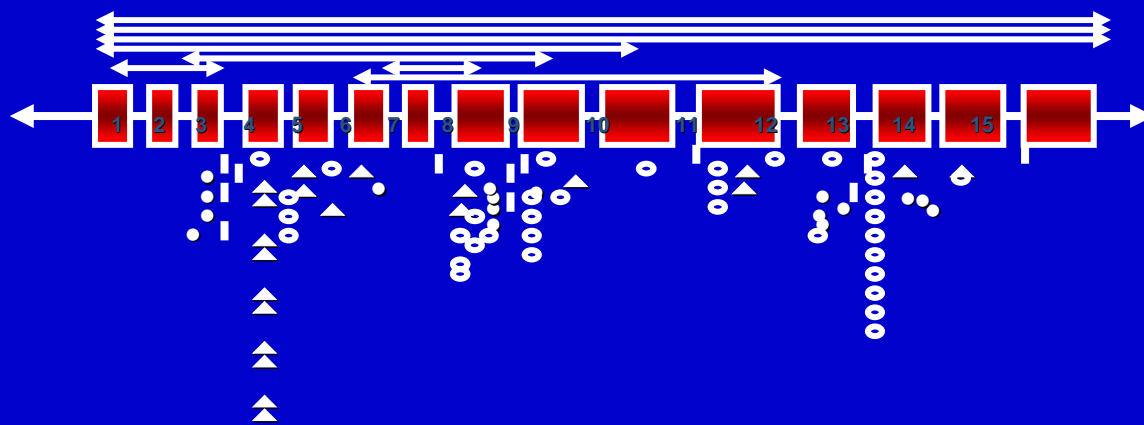


Test genetici



Test indiretti

Test diretti

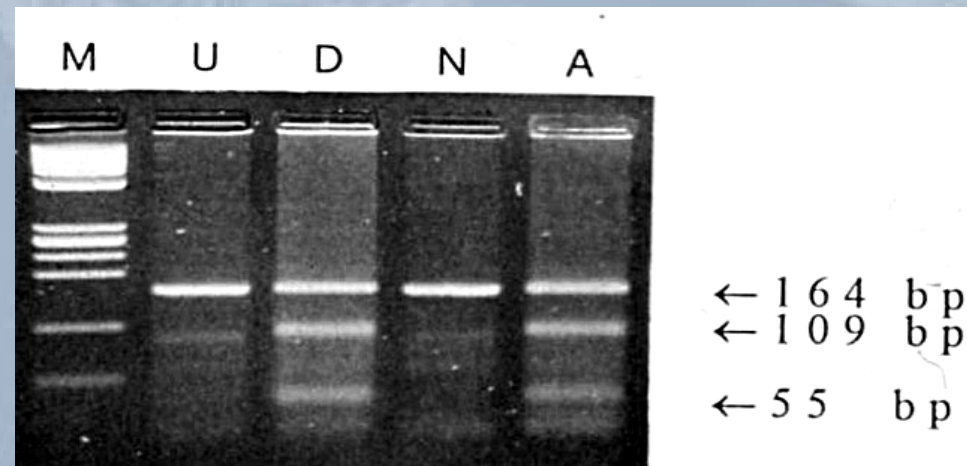




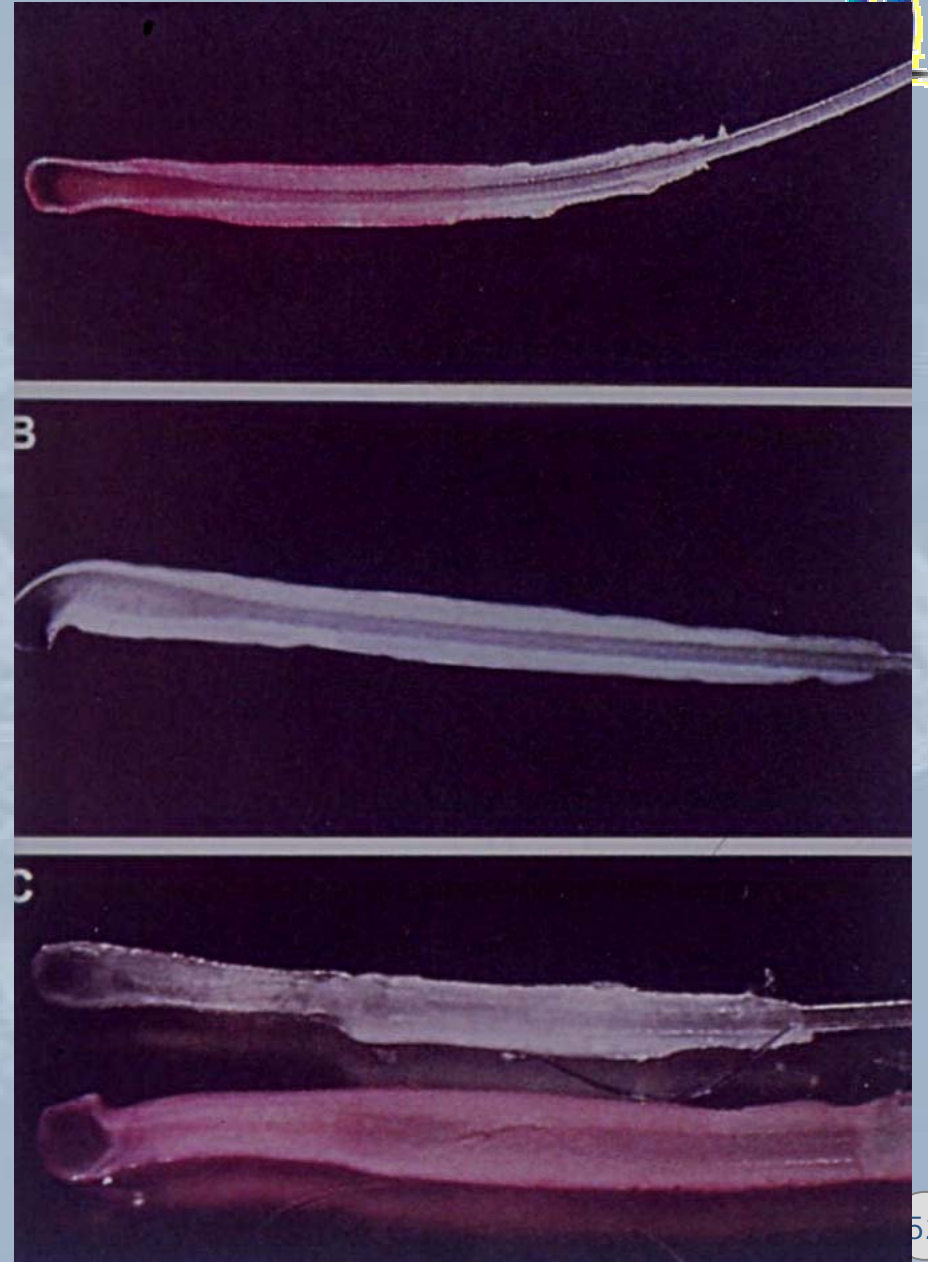
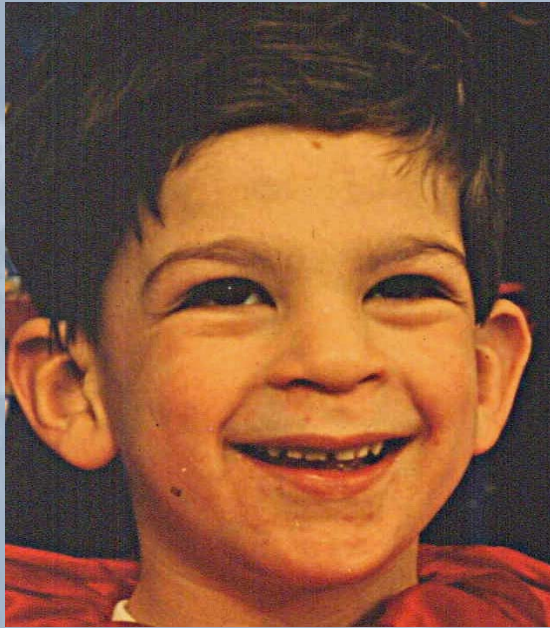
Analisi genetica di mutazioni specifiche

- **G308R** *FGFR3* **Acondroplasia**
- **ΔF508** *CFTR* **Fibrosi cistica**
- **β-39** *HBB* **β-talassemia**

ACONDROPLASIA – MUTAZIONE FGFR3 1138 G→A



RITARDO MENTALE LEGATO ALL'X DA X-FRAGILE (FRAXA)



FMR1 (CGG)_n



Difetti del Tubo Neurale



Malformazioni del SNC conseguenza di un'imperfetta differenziazione e fusione delle strutture cranio-encefaliche o delle strutture dorsali mediane.

L'eziologia dei DTN non è del tutto nota; al momento l'ipotesi più probabile è quella multifattoriale.

Incidenza: 5-8:1.000 nati

Difetti del Tubo Neurale



Exencephalia: parziale o totale assenza della volta cranica con completo ma anomalo sviluppo del tessuto cerebrale

Difetti del Tubo Neurale



Mielomeningocele: è la forma più frequente e più grave di disrafismo spinale aperto



E' caratterizzato da una protrusione, attraverso una schisi vertebrale, di meningi e midollo. Può essere ricoperto da cute normale o assottigliata e distrofica



Difetti del Tubo Neurale

Multifattoriali - rischio empirico

Monitoraggio ecografico

Dosaggio alfa fetoproteina su SM e LA

Mutazioni del gene MTHFR (C677T) > rischio DTN

Assunzione acido folico periconcezionale

DIAGNOSI SU MATERIALE ABORTIVO



FETO DI 12 SETTIMANE

