



## INFORMATIVA TECNICHE DIAGNOSI PRENATALE

Si definisce **genoma** l'intero patrimonio genetico ovvero tutte le informazioni genetiche contenute nel DNA di un individuo. Il genoma è costituito dal **DNA** che è costituito da 2 filamenti di nucleotidi (le lettere del codice genetico), complementari tra di loro, avvolti a spirale a formare una doppia elica, e che fornisce tutte le informazioni necessarie alla sintesi delle sostanze che compongono l'organismo umano. L'unità funzionale del genoma è il **gene** (una specifica porzione di DNA): ciascun gene ha il compito di dare parte o tutte le informazioni necessarie per la sintesi di una determinata proteina. Sono proprio le proteine, e non i geni, ad effettuare la maggior parte delle funzioni dell'organismo e a costituirne la struttura. Le cellule di un individuo contengono lo stesso DNA. Il DNA è avvolto a formare i cromosomi, strutture visibili al microscopio che assumono l'aspetto di bastoncini. Normalmente ogni cellula umana contiene **46 cromosomi** (23 sono ereditati dal padre e 23 dalla madre), di cui 2 cromosomi **sessuali**: il cromosoma **X** e il cromosoma **Y**. Le femmine possiedono due copie dell'**X** (XX), i maschi possiedono un cromosoma X un cromosoma Y (XY), il cromosoma Y quindi, per forza di cose è sempre di origine paterna. Le 22 coppie di cromosomi **non sessuali** sono detti **autosomi**, uguali a due a due. Questo fa sì che ogni gene dell'organismo sia presente in due copie, una che proviene dalla madre e l'altra dal padre. Ognuna delle 2 copie è detta allele. Gli alleli non sempre uguali tra di loro, possono infatti presentare delle differenze. Gli alleli sono quindi, versioni diverse dello stesso gene, fatta eccezione per i cromosomi sessuali che sono presenti in una sola copia nel maschio e in due copie nella femmina.

La **diagnosi prenatale** comprende l'insieme delle procedure volte ad evidenziare la presenza di **patologie cromosomiche** (la presenza di un cromosoma in più o di 1 cromosoma in meno, la perdita di una porzione di cromosoma o la presenza di una porzione in eccesso, la presenza di una porzione di cromosoma in una localizzazione differente dalla norma) o di **patologie genetiche** (la sostituzione dei nucleotidi, ovvero le lettere del codice genetico, con altri cui consegue un errore nell'informazione necessaria per la sintesi delle proteine che compongono l'organismo e quindi la perdita/alterata funzione delle stesse).

Un individuo portatore di patologia cromosomica può, in alcuni casi, non avere problemi di salute ma ha un maggior rischio di avere figli affetti da patologie cromosomiche clinicamente evidenti.

Un individuo portatore di patologia genetica può non avere problemi di salute ma può trasmettere la stessa alterazione genetica alla prole e questa può manifestarsi come malattia se anche il partner è affetto dalla stessa mutazione o se la combinazione con i geni del partner è in grado di alterare la struttura funzionale della proteina codificata dai geni dei genitori.

In assenza di fattori di rischio familiare (per esempio, malattia genetica nota), la scelta di accesso a metodiche di diagnosi prenatale per patologie cromosomiche è della coppia e può essere consigliata in considerazione dell'età materna. Con l'**età materna**, aumenta il rischio di patologie cromosomiche del concepito. Le anomalie cromosomiche più frequenti e legate all'età materna sono le trisomie (21, ovvero sindrome di Down, 18, 13, 16) o le anomalie dei cromosomi sessuali

Anche se le anomalie cromosomiche si verificano nella prole di madri di ogni età, la frequenza di figli affetti da trisomia aumenta con l'età, e in maniera esponenziale dopo i 35 anni (vedi tabella). La prevalenza delle anomalie cromosomiche è del 30% più alta nei feti a 16-18 sett. di gestazione (età mestruale) rispetto ai bambini nati vivi, a causa dell'elevata incidenza di aborti spontanei, in presenza di anomalie cromosomiche.

Età materna	Rischio di sindrome di Down	Rischio di un'altra anomalia cromosomica*
20	1/1667	1/526
22	1/1429	1/500
24	1/1250	1/476
26	1/1176	1/476
28	1/1053	1/435
30	1/952	1/384
32	1/769	1/323
34	1/500	1/238
35	1/385	1/192
36	1/294	1/156
37	1/227	1/127
38	1/175	1/102
39	1/137	1/83
40	1/106	1/66
41	1/82	1/53
42	1/64	1/42
43	1/50	1/33
44	1/38	1/26
45	1/30	1/21
46	1/23	1/16
47	1/18	1/13
48	1/14	1/10
49	1/11	1/8

\*47,XXX esclusa per le età da 20 a 32 (dati non disponibili).

Dati da Hook EB: "Rates of chromosome abnormalities at different maternal ages." *Obstetrics and Gynecology* 58:282285, 1981; and Hook EB, Cross PK, Schreinemachers DM: "Chromosomal abnormality

rates at amniocentesis and in live-born infants." Journal of the American Medical Association 249:20342038, 1983.

Per indagare la possibilità che l'embrione (fino a 12 settimane) o il feto (a partire dalle 12 settimane) possa essere portatore di anomalie cromosomiche è possibile effettuare tecniche di diagnosi prenatale non invasive (che non comportano un rischio di aborto legato all'esecuzione della procedura diagnostica, ma che non sempre forniscono un risultato certo) o invasive (che comportano un rischio di aborto legato alla procedura di campionamento e che forniscono, eccetto rari casi di difficoltà di campionamento o mosaicismo, un risultato certo)

L'età paterna comporta un aumentato rischio di patologie genetiche ex novo, ovvero non presenti nel genitore ma che si sono verificate al momento dell'unione tra il DNA maschile e femminile (fecondazione). Anche in questo caso è possibile indagare la presenza o meno di anomalie genetiche del concepito con tecniche invasive o non invasive. Nel caso delle malattie genetiche, a differenza di quelle cromosomiche, è necessario sapere quale malattia genetica dobbiamo andare ad indagare, allo scopo di studiare la struttura del DNA di uno specifico gene.

### **TECNICHE NON INVASIVE**

Stimano il rischio personale e specifico della donna di avere concepito un embrione/feto affetto da anomalie cromosomiche o genetiche. Tali analisi non forniscono un risultato certo, ma una probabilità. In caso di sospetta anomalia dopo l'esecuzione di tecniche non invasive, si consiglia di effettuare valutazione invasiva di conferma

### **TRANSLUCENZA NUCALE**

Viene effettuata tra l'11<sup>a</sup> e la 13<sup>a</sup> settimana di gravidanza. Attraverso la misura dello spessore della plica nucale, è possibile individuare il 75-80% di feti/embrioni con anomalie cromosomiche (più frequentemente trisomia). Nel corso dell'indagine ecografica vengono essere valutati anche altri markers aggiuntivi suggestivi per cromosomopatia o per anomalie dell'apparato cardiovascolare (osso nasale – dotto venoso Botallo – rigurgito tricuspide)

### **TEST COMBINATO (DUO TEST – BI TEST)**

Viene effettuato tra l'11<sup>a</sup> e la 13<sup>a</sup> settimana di gravidanza. Abbina alla translucenza nucale la valutazione della concentrazione di due proteine presenti nel circolo materno: free-β-hCG (frazione libera della gonadotropina corionica) e PAPP-A (proteina A plasmatica associata alla gravidanza). Calcola in rischio (soprattutto di trisomia) in modo più attendibile della sola translucenza nucale. La sensibilità del test combinato è del 90%, con una percentuale di falsi positivi del 5%. Al termine dell'esame (ecografico e biochimico), il rischio di trisomie (calcolato in base all'età materna) può risultare essere aumentato (e in questo caso è consigliato ulteriore approfondimento con tecniche invasive) o ridotto. E' comunque un calcolo statistico e non un'analisi diretta

### **TEST INTEGRATO (TRIPLO TEST)**

Viene effettuato intorno alla 16<sup>a</sup> settimana di gravidanza. Aggiunge ai dati raccolti con il Duo test, i dati ottenuti mediante l'analisi della concentrazione nel sangue materno di altre sostanze (alfa fetoproteina AFP – estriolo non coniugato). Questo esame consente di riconoscere anomalie cromosomiche (circa il 60-70% dei casi di trisomia 13, 18, 21) e alterazioni del tubo neurale (spina bifida). In presenza di test positivo (rischio aumentato) viene consigliato l'approfondimento con ecografia ostetrica di II livello e/o amniocentesi.

### **NON INVASIVE PRENATAL TESTING – NIPT**

## ANALISI DEL DNA FETALE PER ANOMALIE CROMOSOMICHE (*Prenatalsafe – Natera – Panorama – Harmony....*)

Mediante un prelievo di sangue, già a partire dalla 10<sup>a</sup> settimana di gravidanza, è possibile effettuare l'analisi del DNA fetale libero e circolante nel sangue materno e identificare le aneuploidie (anomalie cromosomiche) fetali più frequenti, quali le trisomie 21, 18, 13 o le aneuploidie dei cromosomi sessuali X e Y. Con questa analisi è possibile conoscere il  sesso  del concepito e, su richiesta, sapere, in caso di madre Rh negativa, se il concepito è  Rh  positivo o negativo. Sono anche disponibili piattaforme più sofisticate che permettono di individuare aneuploidie a carico anche degli altri cromosomi o microdelezioni cromosomiche in grado di determinare specifiche patologie sindromiche. L'attendibilità diagnostica è direttamente correlata alla quantità di DNA fetale analizzabile (frazione fetale). L'attendibilità diagnostica varia a seconda del cromosoma studiato (ad esempio, 99% per trisomia 21, 18, 13 – 95% monosomia X). I risultati sono disponibili in circa 7 giorni lavorativi

A differenza dei test di screening del primo e secondo trimestre (test combinato e test integrato), l'analisi del DNA fetale presente nel circolo materno è un test diretto e non una valutazione statistica del rischio

In caso di esito anomalo, viene consigliato l'approfondimento con tecniche di diagnosi prenatale invasiva

## ANALISI DEL DNA FETALE PER ANOMALIE GENETICHE

Mediante un prelievo di sangue, già a partire dalla 10<sup>a</sup> settimana di gravidanza, è possibile effettuare l'analisi del DNA fetale libero e circolante nel sangue materno per individuare la presenza di malattie genetiche ereditate dai genitori o legate ad errori (de novo) verificatesi al momento della spermatogenesi (produzione di spermatozoi) o del concepimento e per lo più legate all'età paterna

Molte delle patologie indagate non sono rilevabili alle indagini ecografiche (specialmente nel primo trimestre). Alcune di queste malattie genetiche sono individuabili ecograficamente solo al secondo o al terzo trimestre. Tali malattie possono determinare nel bambino displasie scheletriche, difetti cardiaci, anomalie congenite multiple, e/o deficit intellettivi.

In caso di esito anomalo, viene consigliato l'approfondimento con tecniche di diagnosi prenatale invasiva

## ANALISI GENETICA PRECONCEPIMENTO

Permette l'analisi multipla di oltre 750 malattie genetiche, tra cui quelle più frequentemente riscontrate nella popolazione europea, ovvero talassemia, fibrosi cistica, anemia falciforme, sordità congenita. Il test (effettuato mediante analisi del sangue) consente ai genitori di conoscere, attraverso un'analisi del proprio DNA, la condizione di portatore sano di anomalie genetiche e, quindi, la possibilità di trasmissione delle stesse alla prole. Può essere effettuato in periodo preconcezionale o durante la gravidanza stessa, come approfondimento per decidere le analisi da effettuare sul concepito nel corso della gravidanza

## **TECNICHE INVASIVE**

### VILLOCENTESI

Viene effettuata mediante prelievo ecoguidato per via transaddominale dei villi coriali placentari. I villi coriali vengono quindi analizzati per anomalie cromosomiche o per malattie monogeniche 6 ereditarie. Il rischio di aborto conseguente all'esecuzione del prelievo è circa 1%. I rischi materni sono rari. A seguito del prelievo, possono verificarsi perdite di sangue e/o liquido amniotico dei genitali, contrazioni uterine, infezioni intrauterine.

### AMNIOCENTESI

Viene effettuata mediante prelievo ecoguidato per via transaddominale di 15-20 cc di liquido amniotico. Le cellule fetali presenti nel liquido amniotico vengono sottoposte a coltura e quindi analizzate per anomalie cromosomiche o per malattie monogeniche ereditarie. Le complicanze più frequentemente osservate dopo l'amniocentesi sono l'aborto e/o la rottura del sacco amniotico. Il rischio di aborto è stimato essere tra lo 0,5 e l'1%. La rottura del sacco amniotico avviene in genere entro 2-3 giorni dall'esame e in 1 caso ogni 300 donne.

#### CARIOTIPO TRADIZIONALE (CITOGENETICA) O MOLECOLARE (Array – CGH)

Il materiale prelevato mediante villocentesi e amniocentesi può essere analizzato mediante valutazione del CARIOTIPO TRADIZIONALE (tecniche di citogenetica) o con il CARIOTIPO MOLECOLARE (Array – CGH) rispetto all'esame citogenetico tradizionale, il cariotipo molecolare ha una risoluzione più elevata (circa 100 volte) e permette di identificare alcune patologie determinate da alterazioni cromosomiche submicroscopiche, non evidenziabili con l'analisi citogenetica tradizionale del cariotipo.

I tempi di consegna dell'esito sono 15-20 giorni per il cariotipo tradizionale e 2-3 giorni per il cariotipo molecolare

In caso di necessità, l'analisi del materiale prelevato mediante villocentesi o amniocentesi può essere integrato dalla DIAGNOSTICA PRENATALE MOLECOLARE INFETTIVOLOGICA che consiste nell'effettuare la ricerca, con tecniche molecolari, per la presenza del genoma di agenti infettivi (Cytomegalovirus, Toxoplasma Gondii, Parvovirus, Rubeovirus, Varicella Zooster virus, herpes virus, HIV)

#### ANALISI GENETICA DEL DNA FETALE

Sul materiale prelevato mediante villocentesi o amniocentesi può essere effettuata, oltre al cariotipo l'analisi multipla per oltre 1000 malattie genetiche sul concepito

#### **TABELLA RIASSUNTIVA DELLE TECNICHE DI DIAGNOSI PRENATALE**

<b>Tipo di test prenatale</b>	<b>denominazione</b>	<b>Epoca gestazionale</b>	<b>Tipo di campione</b>
Non invasivo	Analisi genetica preconcipimento	Pre-concepimento	sangue
Non invasivo	Traslucenza nucale	11-13+6 settimane	Ecografia
Non invasivo	Test combinato (Bi test o Duo test)	Da 9 a 13+6 settimane (biochimica) Da 11+4 a 13+6 settimane (ecografia)	Prelievo sangue ecografia
Non invasivo	Test integrato (triplo test)	Da 15 a 18 settimane	Prelievo sangue ecografia
Non invasivo	NIPT (analisi DNA fetale)	Da 10 settimane	Prelievo di sangue
invasivo	villocentesi	Da 11 a 13 settimane	Villi coriali
invasivo	Amniocentesi	Da 15+1 a 18 settimane	Liquido amniotico
invasivo	Analisi genetica del DNA fetale	Da 11 a 13 settimane (villocentesi)	Villi coriali Liquido amniotico

Da 15+1 a 18 settimane  
(amniocentesi)