



Università degli studi di Parma

Dottorato di ricerca in Scienze Ostetriche e Ginecologiche

Ciclo xxv

"Complicanze della Diagnosi prenatale invasiva: amniocentesi e villocentesi"

Coordinatore:

Chiar.mo Prof. Alberto Bacchi Modena

Tutor:

Chiar.ma Prof.ssa Carla Verrotti di Pianella

Dottorando:

Dott.ssa Maria Giovanna Carpano

INTRODUZIONE

Lo spostamento sempre più frequente dell'età riproduttiva oltre i 30 anni determinato dalle nuove esigenze sociali, il progredire della ricerca e dello sviluppo della biologia molecolare, hanno indotto ad identificare test di screening prenatali sempre più affidabili che consentano di selezionare, nella popolazione generale delle gestanti, un ristretto gruppo di donne ad alto rischio a cui offrire i test diagnostici invasivi atti ad individuare anomalie cromosomiche fetali come la trisomia 21 (sindrome di Down) e la trisomia 18 (sindrome di Edwards) poiché queste costituiscono le aneuploidie che, con maggiore prevalenza, sono riscontrabili alla nascita e il cui rischio statistico risulta strettamente correlato all'aumento dell'età materna.

La diagnosi prenatale non invasiva, al momento attuale, costituisce uno strumento esclusivamente statistico e viene richiesta da coloro che non intendano incorrere, in quella percentuale di rischio di abortività (0,5-1%) che le tecniche invasive tuttora comportano.

In Italia nascono ogni anno circa 30000 neonati affetti da una malattia genetica o congenita; la diagnosi certa di queste anomalie può essere ottenuta esclusivamente mediante diagnosi prenatale invasiva.

Le principali tecniche invasive, che consistono nel prelievo di campioni biologici fetali, sono la villocentesi, l'amniocentesi e la funicolocentesi (fig1).

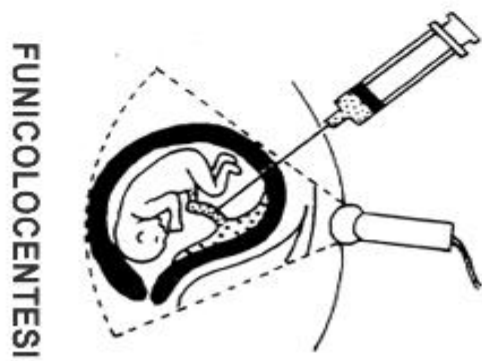
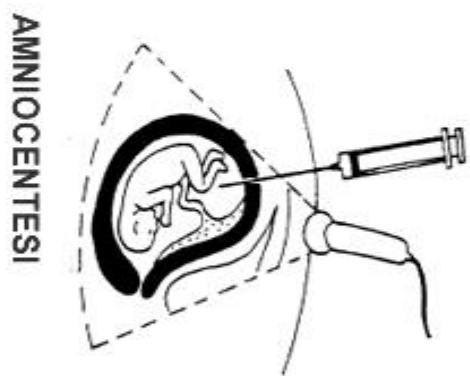
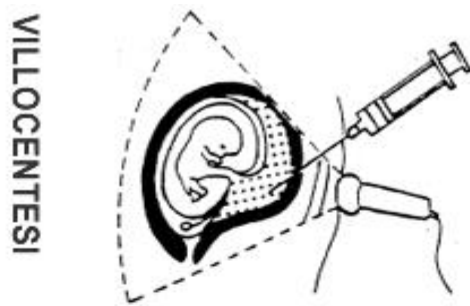


fig. 1

Le malattie genetiche o congenite diagnosticabili in epoca prenatale possono essere suddivise in (1):

- anomalie cromosomiche
- malattie geniche
- malformazioni congenite
- infezioni fetali

Tali malattie possono essere:

- incompatibili con la vita
- associate con un'alta morbilità e disabilità a lungo termine
- soggette ad una potenziale terapia intrauterina
- soggette ad accertamenti o trattamenti postnatali più o meno precoci

Le indicazioni alle indagini citogenetiche per le anomalie cromosomiche fetali comprese nel decreto Bindi del '98 sono le seguenti:

- Età materna uguale o superiore a 35 anni.
- Genitori con precedente figlio affetto da patologia cromosomica.
- Genitore portatore di riarrangiamento strutturale non associato ad effetto fenotipico.
- Genitore con aneuploidie dei cromosomi sessuali compatibili con la fertilità.

- Anomalie malformative evidenziate ecograficamente.
- Probabilità di 1/250 o maggiore che il feto sia affetto da Sindrome di Down (o alcune altre aneuploidie) sulla base dei parametri biochimici valutati su sangue materno o ecografici, attuati con specifici programmi regionali in centri individuati dalle singole Regioni e sottoposti a verifica continua della qualità.

La Sindrome di Down (SD), nota fin dal XVI secolo, ebbe il suo inquadramento nosologico solo nel 1866 ad opera del medico inglese John Langdon Down da cui prende il nome. Nel 1959 J. Lejeune dimostrò che la SD dipende dalla presenza di tre cromosomi del tipo 21 in luogo della normale coppia e da allora viene anche definita “trisomia 21”. Si tratta di un difetto cromosomico congenito non ereditario, a comparsa casuale. Attualmente è la più nota e diffusa tra le anomalie del numero dei cromosomi (aneuploidie) e la sopravvivenza piuttosto lunga delle persone che ne sono portatrici ha determinato nella società la consapevolezza della sua presenza.

La trisomia 21 può essere associata a cardiopatie congenite e patologie neurosensoriali a carico di vista ed udito nel 50% dei casi, nel 15% dei casi si manifestano ipotiroidismo, patologie del sistema emopoietico e/o di quello immunocompetente. Il rischio di avere un figlio affetto dalla SD è

direttamente proporzionale all'età materna, con un rischio per le donne di età più giovane decisamente minore rispetto a quello delle donne più anziane. Il rischio che un feto sia affetto da trisomia 21 quindi aumenta con l'avanzare dell'età materna; ma poiché l'incidenza di aborto spontaneo/morte endouterina nel periodo compreso tra le 12 e le 40 settimane è circa del 30% tale rischio diminuisce con l'avanzare dell'epoca gestazionale (2,3).

Il rischio di trisomia del cromosoma 18 e 13 aumenta con l'avanzare dell'età materna e diminuisce con l'avanzare dell'epoca gestazionale, in quanto la percentuale di aborto spontaneo o morte endouterina fra la 12° e la 40° settimana è di circa l'80%.

La Sindrome di Turner è generalmente causata dalla perdita del cromosoma X di origine paterna e, di conseguenza, non è legata all'età materna. Per quanto concerne le altre anomalie dei cromosomi sessuali (47 XXX, 47 XXY e 47 XYY) non vi sono cambiamenti significativi in relazione all'età materna e, poiché il numero di aborti o morti endouterine non è più elevato rispetto ai feti normali, la prevalenza totale non diminuisce con l'avanzare dell'epoca gestazionale.

Un altro parametro importante nella valutazione del rischio di anomalie

cromosomiche è il riscontro di una precedente gravidanza con un figlio affetto da trisomia 21; in questo caso il rischio di ricorrenza nella gravidanza successiva aumenta dello 0,75% rispetto al rischio a priori (dipendente dell'età materna e dall'epoca gestazionale) al momento del test.

DIAGNOSI PRENATALE INVASIVA

La diagnosi prenatale invasiva ha come obiettivo l'identificazione delle alterazioni cromosomiche o geniche dei gameti o dell'embrione che possono estrinsecarsi non soltanto come embriopatie e fetopatie, ma anche come malattie post-natali. Comprende l'insieme delle procedure idonee a prelevare tessuti embrio-fetali od annessiali allo scopo di indagare sospette cromosomopatie correlate a quadri malformativi, per la ricerca di agenti infettivi, per la valutazione di parametri ematologici fetali.

Le procedure più utilizzate sono:

- Amniocentesi
- Villocentesi (CVS)

Le tecniche e i percorsi di cura per l'amniocentesi e la villocentesi si attengono alle linee guida nazionali della Società Italiana di Diagnosi Prenatale e Medicina Materno Fetale(S.I.Di.P.) stilate tenendo conto delle linee guida prodotte dalle maggiori Società di Ginecologia e Ostetricia (ACOG, RCOG, SOCG), ma alcuni aspetti , tra cui la scelta degli strumenti, si basano sull' esperienza e preferenze personali dell'operatore (4).

VILLOCENTESI

La villocentesi è stata descritta per la prima volta in Cina a metà degli anni 70 (Cina 1975) e ulteriormente sviluppata nel mondo occidentale negli anni 80.

Il prelievo dei villi coriali è il metodo di scelta per l'ottenimento di tessuto fetale per la diagnosi prenatale prima della 15^a settimana di gravidanza; di solito è eseguita tra la 11^a (11 + 0) e la 13^a (13 + 6 gg) settimana di gestazione.

La procedura prevede l'aspirazione di tessuto placentare sotto guida ecografica utilizzando l'approccio trans addominale (fig.2) o trans cervicale (fig.3).

Nella metodica transaddominale dopo disinfezione della cute, si localizza ecograficamente la placenta cercando di ottenere una porzione più ampia possibile e si procede ad aspirazione del campione di villi coriali utilizzando preferibilmente un ago di 20 G (5) sotto guida ecografica (6). Il campione è ottenuto con pressione negativa, creata dall'aspiratore.

Difficoltà alla procedura può essere data da obesità materna, dalla presenza di fibromi e dalla localizzazione posteriore della placenta che potrebbe rendere estremamente difficoltosa la sua esecuzione.

La metodica transcervicale è eseguita con la paziente in posizione ginecologica; dopo disinfezione si procede all'inserimento transcervicale di una pinza o cannula fino a raggiungere la placenta prelevando il campione di villi coriali.

La villocentesi trans cervicale ha il vantaggio di poter raggiungere più facilmente le placente a localizzazione posteriore ma comunque risulta essere tecnicamente più impegnativa della transaddominale , con rischio di sanguinamento vaginale nel 10% delle donne e un più alto tasso di aborti e risulta essere per questo una metodica poco utilizzata (7).

Con la villocentesi si possono effettuare lo studio del cariotipo fetale, l'esame del DNA fetale, la valutazione di attività enzimatiche.

Le complicanze principali della villocentesi sono rappresentate da perdite ematiche vaginale nei 2-3 giorni successivi all'esame, dolore addominale e aborto interno (0,5-1%) (19). La villocentesi precoce (7-9 Settimane) si può associare a riduzione degli arti e a difetti ro-mandibolari (8,9).

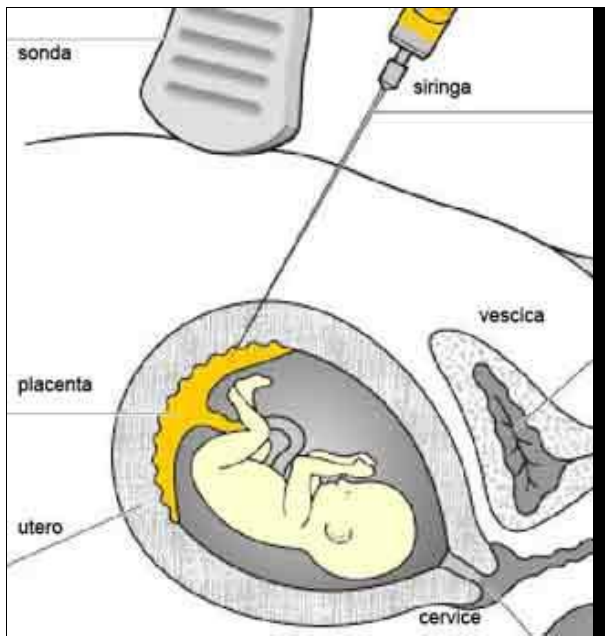


fig.2

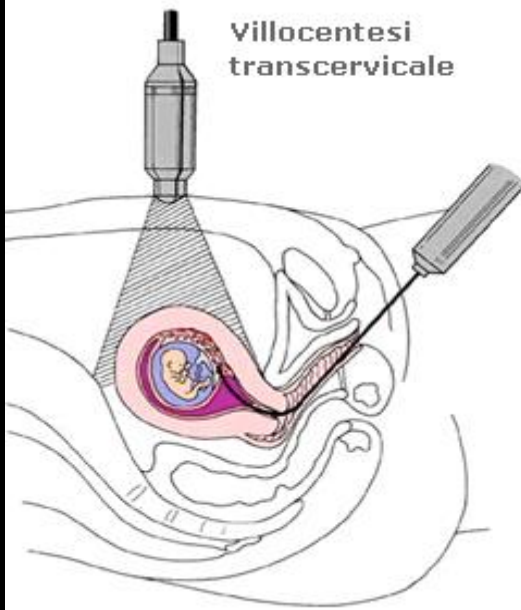


fig.3

AMNIOCENTESI

L'amniocentesi consente il prelievo transaddominale di liquido amniotico dalla cavità uterina; è la metodica più diffusa per ottenere campioni biologici utili al fine di effettuare una diagnosi prenatale, ma anche la più antica, affondando le sue radici agli inizi del XIX secolo quale pratica chirurgica per il polidramnios o per l'instillazione di soluzioni ipertoniche al fine di indurre l'aborto.

L'amniocentesi del secondo trimestre è eseguita tra la 15^a e la 18^a settimana di gestazione ed è distinta dalla amniocentesi precoce eseguita prima della 15^a settimana di gestazione e ormai poco utilizzata per il suo più alto rischio di aborto(10,11, 12,13,20) (fig.4).

La paziente è posta in posizione supina e dopo disinfezione della cute addominale si individua ecograficamente la massima falda di liquido amniotico e con un ago di 20 G si procede ad aspirazione di circa 20 cc di liquido amniotico sotto guida ecografica (6).

Con l'amniocentesi si possono effettuare lo studio del cariotipo fetale, la ricerca di agenti infettivi virali o protozoari nel liquido amniotico, l'esame del DNA fetale, la determinazione della concentrazione di alfa-fetoproteina o di altri metaboliti fetali.

Le complicanze dell'amniocentesi del secondo trimestre sono rappresentate da aborto interno (0,5-1%), perdite di liquido amniotico, spotting vaginale, corioamniotite, parto pretermine (8,18,19).

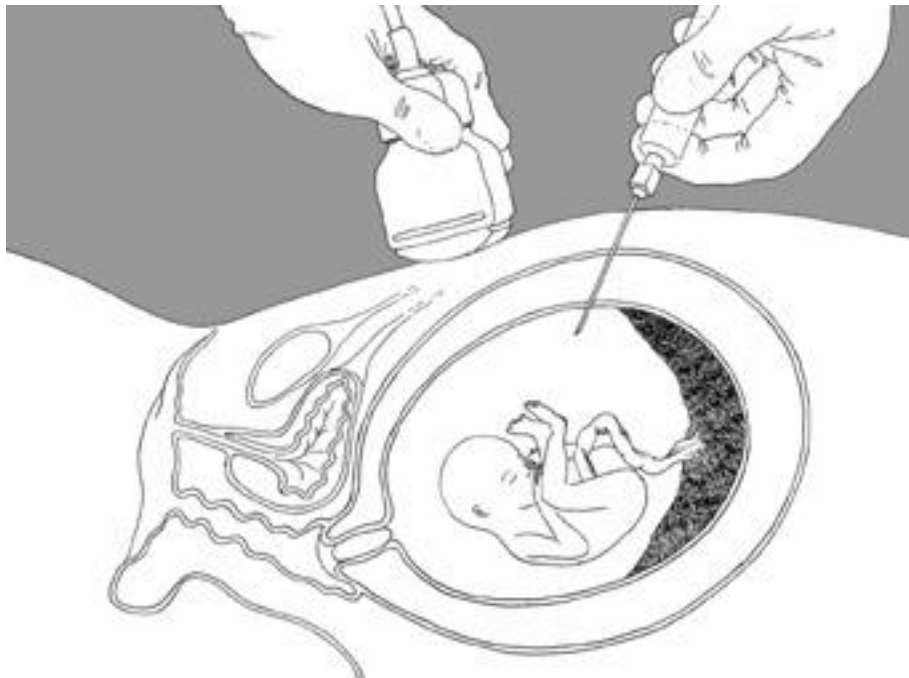


fig.4

MATERIALI E METODI

Nel nostro lavoro sono state analizzate le complicanze legate ad amniocentesi e villocentesi eseguite tra gennaio 2010 e dicembre 2011 presso il "Servizio di ecografia e diagnosi prenatale" della Clinica Ostetrico-Ginecologica dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma concentrandosi prevalentemente sulla percentuale di abortività.

Nel suddetto periodo sono state eseguite 570 amniocentesi e 896 villocentesi per un totale di 1466 procedure invasive eseguite su donne di età superiore ai 35 anni o con test di screening positivi del primo o del secondo trimestre.

Nella pratica del nostro centro le pazienti accedono dopo appuntamento telefonico ed effettuano un colloquio informativo durante il quale viene fatto firmare un consenso informato⁽¹⁴⁾.

Le amniocentesi sono state eseguite tra la 15[^] e la 18[^] settimana, le villocentesi tra la 11[^] e la 13[^] settimana di gestazione avvalendosi di un ambulatorio chirurgico ad alta sterilità e di operatori con esperienza superiore a 5 anni in costante aggiornamento e con un numero adeguato di procedure annue atte a garantire l'ottima riuscita dell'esame⁽¹⁵⁾. L' ecografo usato è stato un Voluson E8.

Per le amniocentesi sono stati utilizzati aghi 20 G x 150 mm di lunghezza (ECOLED NEEDLE) , per le villocentesi aghi 20 G x 150 mm (ECOJEKT).

Per le pazienti obese sono stati utilizzati aghi di 200 mm di lunghezza.

Dopo disinfezione della cute addominale ed in assoluta sterilità , dopo aver individuato ecograficamente la falda massima di liquido amniotico(amniocentesi) o la porzione placentare più ampia possibile(villocentesi), sotto costante guida ecografica(6) si procede all'inserzione dell'ago con successivo prelievo di liquido amniotico in quantità di circa 20 cc o di materiale villo-coriale sufficiente all'analisi citologica.

Dopo la procedura la paziente è stata tenuta in osservazione per almeno 30 minuti ed è stata somministrata immunoprofilassi anti-D alle donne con emogruppo Rh negativo.

Non è stata effettuata alcuna profilassi antibiotica o terapia tocolitica prima o dopo la procedura invasiva.

RISULTATI

Su 896 villocentesi sono state eseguite 28 IVG per cromosomopatie(3,12%); 3 pazienti con gravidanza gemellare sono state sottoposte a prelievo di villi coriali portate regolarmente a termine ; si sono riscontrati un totale di 9 aborti spontanei corrispondenti all'1%. Tra i 9 aborti dobbiamo però evidenziare 2 casi con positività per cromosomopatia e altri 2 casi in cui la perdita fetale si è verificata dopo 60 giorni dal prelievo dei villi coriali; la percentuale di abortività si riduce allo 0,78% se non consideriamo i 2 casi associati a cromosomopatia.

Su 570 amniocentesi abbiamo riscontrato 25 interruzioni volontarie della gravidanza per cromosomopatie (4,38%); 3 pazienti con gravidanza gemellare sono state sottoposte a prelievo di liquido amniotico, in una delle tre è stato effettuato l' aborto selettivo di un gemello per cromosomopatia e tutte hanno portato a termine la gravidanza; si sono riscontrati 2 aborti spontanei rispettivamente dopo 20 e 7 giorni corrispondenti allo 0,35%.

Solo in 16 casi (3 amniocentesi e 13 villocentesi) sono state necessarie 2 inserzioni dell'ago senza esito in aborto.

CONCLUSIONI

La scelta della metodica da utilizzare nel praticare la Diagnosi Prenatale (villocentesi/amniocentesi) si è storicamente basata sul calcolo costo/beneficio, dove il costo era rappresentato dal rischio di aborto ed il beneficio dal risultato in termini di diagnosi da ricercare ed ottenibili.

Attualmente si nota una progressiva riduzione del rischio di aborto (soprattutto nei Centri con maggiore esperienza) ed un enorme incremento delle possibilità diagnostiche (es: DNA).

Benché il rischio si sia ridotto rimane sempre evidente un maggior rischio della villocentesi rispetto all'amniocentesi. Tale differenza non si coglie nei Centri dove il rischio di aborto rimane elevato per entrambe le metodiche (6.3% versus 7%).

In alcuni Centri, dove comunque il rischio è piuttosto elevato per entrambe le metodiche, non si osservano differenze molto significative nelle percentuali di aborto.

Uno studio effettuato valutando le villocentesi eseguite in un arco di tempo compreso tra il 1998 e il 2003, afferma che il tasso di abortività post-procedura è notevolmente diminuito rispetto ai precedenti 20 anni (1.93% vs 3.12%) e, prendendo in considerazione anche l'età gestazionale, l'età materna e le indicazioni alla procedura, non sono state trovate differenze

nella percentuale di aborti post-villocentesi e post-amniocentesi (16).

In letteratura non esiste unanime consenso nella scelta delle metodiche. E' comunque consuetudine pressoché unanime indirizzare alla villocentesi le gravidanze ad "alto rischio" di anomalie fetali ed all'amniocentesi quelle considerate a "basso rischio".

Il nostro studio si è proposto come obiettivo quello di valutare le complicanze legate alla amniocentesi e villocentesi ponendo l'attenzione in particolare sul tasso di abortività con il proposito di apportare miglioramenti alle metodiche attuali.

I nostri dati hanno evidenziato un tasso di abortività post-villocentesi dello 0,78% in linea con i dati della letteratura (0,5 % -1%); gli aborti post-amniocentesi sono risultati dello 0,35%, inferiori rispetto alle previsioni della letteratura(13).

Sulla base dei risultati ottenuti possiamo affermare di poter continuare con l'uso degli attuali strumenti e la messa in pratica delle attuali metodiche con i quali gli operatori hanno al momento maggiore familiarità (4,17).

BIBLIOGRAFIA

1. Linee guida sulle tecniche invasive in diagnosi prenatale, S.I.Di.P. dicembre 2006
2. Snijders RJM, Sebire NJ, Cuckle H, Nicolaides KH. Maternal age and gestational age-specific risks for chromosomal defects. *Fetal Diag Ther* 1995; 10: 356-67
3. Snijders RJM, Sundberg K, Holzgreve W, Henry G, Nicolaides KH. Maternal age and gestational-specific risk for trisomy 21. *Ultrasound Obstet gynecol* 1999; 13: 167-70.
4. Mujezinovic F, Alfirevic Z, Technique modification for reducing the risks from amniocentesis or chorionic villus sampling. *The Cochrane database* 2012.
5. Alfirevic Z, von Dadelszen P ,Instruments for chorionic villus sampling for prenatal diagnosis (Review) , *The Cochrane Library* 2010, Issue 1
6. Seeds JW, Diagnostic mid trimester amniocentesis: how safe, *International Journal of Gynecology Obstetrics* 2004; 191:607-15
7. Smidt-Jensen S, Permin M, Philip J, Lundsteen C, Zachary J, Fowler S, *et al.* Randomized comparison of amniocentesis and transabdominal and transcervical chorionic villus sampling. *Lancet* 1992;340:1237–44

8. Faris Mujezinovic F, Alfirevic Z. Procedure-related complications of amniocentesis and chorionic villous sampling. A systematic review. *Obstet. Gynecol.*, 2007; 110: 687-94
9. Alfirevic Z, Sundberg K, Brigham S. Amnicentesis and chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* 2003, Issue 3.
10. Mungen E., Tutuncu L., Muhcu M. Yergok YZ Pregnancy outcome following second-trimester amniocentes case-control study. *International Journal of Gynecology Obstetrics* 2006; 23:25-30
11. Alfirevic Z. Early amniocentesis versus transabdominal chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2002, Issue 4.
12. CEMAT Group. Randomised trial to assess safety and fetal outcome of early and midtrimester amniocentesis. *The Canadian Early and Mid-trimester Amniocentesis Trial (CEMAT) Group. Lancet* 1998;351(9098):242–7
13. Kong CW, Leung TN, Leng TY, Risk factorsmfor procedure-related fetal losses after mid-trimester genetic amniocentesis, *Pren Diagn*, 2006; 26(10): 925-30
14. Amniocentesis, Consent advice 6, 2006, RCOG
15. Tabor A, Philip J, Madsen M. Randomised controlled trial of genetic amniocentesis in 4606 low-risk women. *Lancet* 1986;1:1287-93.
16. Aaron B. Caughey, Linda M. Hopkins, Mary E. Norton. Chorionic villus

sampling compared with amniocentesis and the difference in the rate of pregnancy loss. *Obstet Gynecol*, vol.108, no.3, part 1, September 2006, 612-616

17. Brambati B., Tului L., Chorionic villus sampling and amniocentesis, *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2005 ;17(2): 197:201

18. Munim S, Ismail H. Pregnancy loss rate following amniocentesis, *J. Pak. Med Assoc.* 2012; 62 (6): 545-7

19. Kollmann M, Haeusler M, Haas J, Csapo B, Lang U, Klaritsch P. Procedure-Related Complications after Genetic amniocentesis and Chorionic Villu Sampling, *Ultraschall Med.* 2012

20. Wilson RD, Johnson J, Windrim R, et al. The early amniocentesis study: a randomized clinical trial of early amniocentesis and midtrimester amniocentesis. *Fetal Diagn Ther* 1997; 12:97-101