



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PARMA

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PARMA

Dottorato di ricerca in Scienze Ostetriche e Ginecologiche

Ciclo XXI

LO SCREENING DELLE ANOMALIE CROMOSOMICHE NELLA PRATICA CLINICA MEDIANTE IL TEST COMBINATO

Coordinatore:

Chiar.mo Prof. Giovanni B. Nardelli

Tutor:

Chiar.mo Prof. Mirella Armanetti

Dottorando:

Dott. Barbara Galanti

INDICE

Riassunto	Pag 3
Introduzione	Pag 6
Materiali e metodi	Pag 29
Risultati	Pag 33
Discussione	Pag 36
Bibliografia e sitografia	Pag 40

RIASSUNTO

Le anomalie cromosomiche sono la causa principale di mortalità perinatale e di handicap neonatale. L'identificazione delle anomalie cromosomiche rappresenta l'indicazione più frequente alla diagnosi prenatale invasiva. Nella diagnosi delle anomalie cromosomiche i test diagnostici invasivi sono procedure complesse, costose e non prive di conseguenze indesiderate; pertanto negli ultimi 30 anni si è cercato di identificare in epoca prenatale i test di screening che consentono di selezionare, nella popolazione generale delle gestanti, un ristretto gruppo di donne ad alto rischio a cui offrire i test diagnostici invasivi.

La ricerca di un test di screening per le anomalie cromosomiche, a basso costo, privo di rischi e proponibile a tutte le donne in epoca precoce di gravidanza, ha portato alla diffusione del Test combinato nel primo trimestre di gravidanza, basato sull'associazione di marcatori biochimici (free- β -hCG e PAPP-A, Proteina A plasmatica associata alla gravidanza) ed ecografici (misurazione della translucenza nucale NT) valutati tra la 11° e 14° settimana secondo le indicazioni della Fetal Medicine Foundation. Il test combinato consente di identificare i feti affetti da trisomia 21 con una sensibilità del 90 % per un numero di falsi positivi del 5 %, e di selezionare un ristretto gruppo di gravide (circa il 5%, indipendentemente dall'età materna) a cui riservare l'offerta della diagnosi invasiva, perché risultate ad alto rischio di avere un figlio affetto da un'anomalia cromosomica.

Responsabilità del medico è quella di informare la coppia delle differenze tra un test di screening ed un test diagnostico, di considerare i vantaggi e gli svantaggi dell'uno e dell'altro, consentendo ad ogni coppia di scegliere in base alle proprie convinzioni etiche e religiose, in base alla propria storia familiare/personale, quale sia il percorso più adeguato per sé.

Scopo dello studio, condotto presso il Servizio "Spazio Salute Donna" dell'Azienda Sanitaria Locale di Parma, è stato quello di valutare la sensibilità del test combinato sulla nostra popolazione di gravide non selezionate, e di determinare se le informazioni ricevute sul test di screening erano state correttamente comprese dalle pazienti.

L'analisi dei dati ha dimostrato che la distribuzione dei valori di NT nel gruppo di gravide esaminate è in accordo con quanto atteso dai dati forniti dalla Fetal Medicine Foundation (62% di valori superiori alla mediana), con un'incidenza dei falsi positivi del 6%, cioè di poco superiore a quanto riportato in letteratura (5% di falsi positivi).

E' stato invece riscontrato un numero eccessivo di falsi positivi derivati dall'analisi dei marcatori biochimici. Questo dato potrebbe essere riconducibile al numero ancora limitato dei casi esaminati, ma pone una riflessione sull'importanza di contenere il numero dei falsi positivi, sia per evitare inutili stress psicologici alla coppia, sia per ridurre il numero delle procedure invasive con i rischi di abortività che queste comportano. Momento importante nella diagnosi prenatale è l'informazione sui test di screening e/o diagnostici proposti. Le pazienti dello studio hanno dichiarato dal questionario proposto, di avere ricevuto un'adeguata

informazione prima dell'esecuzione dell'esame, ed hanno manifestato un alto gradimento del test combinato, con oltre il 97% di donne che ripeterebbe il test in una gravidanza successiva.

Inoltre la chiara e precisa comunicazione del risultato dello screening eseguito, ha dimostrato avere un ruolo di fondamentale importanza nella scelta dell'iter diagnostico da parte della coppia.

In conclusione, il test combinato nel primo trimestre di gravidanza rappresenta un importante test di screening delle anomalie cromosomiche, e consente di aumentare in maniera significativa il numero delle donne che preferiscono eseguire indagini di screening nella fase precoce della gravidanza, riducendo il ricorso alla diagnosi prenatale invasiva.

INTRODUZIONE

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 (1,2). 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 tabella 1 quantifica questo aspetto per quanto riguarda la SD, sulla base delle osservazioni cliniche realizzate con la diagnosi prenatale: a partire dagli anni '70, mediante il prelievo di liquido amniotico a 16-20 settimane di gravidanza e, a partire dagli anni '80, mediante il prelievo dei villi coriali a 10-14 settimane (3).

TABELLA 1
PREVALENZA ATTESA DELLA SD ALLE DIVERSE SETTIMANE DI ETÀ GESTAZIONALE

Età materna	10 sett.	12 sett.	14 sett.	16 sett.	20 sett.	40 sett.
< 25	1/983	1/1068	1/1140	1/1200	1/1295	1/1527
25	1/800	1/946	1/1009	1/1062	1/1147	1/1352
30	1/576	1/626	1/668	1/703	1/759	1/895
31	1/500	1/543	1/580	1/610	1/658	1/776
32	1/424	1/461	1/492	1/518	1/559	1/659
33	1/352	1/383	1/409	1/430	1/464	1/547
34	1/287	1/312	1/333	1/350	1/378	1/446
35	1/229	1/249	1/266	1/280	1/302	1/356
36	1/180	1/196	1/209	1/220	1/238	1/280
37	1/140	1/152	1/163	1/171	1/185	1/218
38	1/108	1/117	1/125	1/131	1/142	1/167
39	1/82	1/89	1/95	1/100	1/108	1/128
40	1/62	1/68	1/72	1/76	1/82	1/97
41	1/47	1/51	1/54	1/57	1/62	1/73
42	1/35	1/38	1/41	1/43	1/46	1/55
43	1/26	1/29	1/30	1/32	1/35	1/41
44	1/20	1/21	1/23	1/24	1/26	1/30
≥ 45	1/15	1/16	1/17	1/18	1/19	1/23

(Tratta da FMF "Ulcografia a 11-14 settimane").

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.

TEST DIAGNOSTICI

La trisomia 21 può essere individuata con certezza durante la gravidanza mediante lo studio del cariotipo fetale (esame citogenetico) ottenuto da cellule fetali prelevate mediante le metodiche di diagnosi prenatale invasiva che sono:

- prelievo dei villi coriali (CVS - Chorionic Villous Sampling) che si esegue nel primo trimestre di gravidanza, tra le 11 e le 13 settimane di età gestazionale;
- prelievo di liquido amniotico (amniocentesi) che si esegue nel secondo trimestre di gravidanza, tra le 15 e le 18 settimane di età gestazionale;
- prelievo di sangue fetale (cordocentesi o funicolocentesi) che si può effettuare dopo le 18 settimane di età gestazionale.

Le tecniche di diagnosi prenatale invasiva sono costose, e sono gravate da un rischio di perdita fetale relativa alla procedura, che è stimata intorno all'1% per l'amniocentesi ed il prelievo dei villi coriali e intorno al 2% per la cordocentesi (4). Per questi motivi la diagnosi prenatale invasiva non è offerta a tutte le gravide, ma ad un numero limitato di donne con un rischio maggiore.

Inizialmente l'amniocentesi fu offerta soltanto alle donne con almeno 40 anni; ma, gradualmente, venne ridefinito il gruppo "ad alto rischio" e vennero incluse tutte le donne con almeno 35 anni di età. Questo gruppo costituisce il 5% della popolazione di pazienti gravide e permette di individuare circa il 30% dei bambini affetti dalla trisomia 21.

TEST DI SCREENING

Nella diagnosi delle anomalie cromosomiche i test diagnostici invasivi sono procedure complesse, costose e non prive di conseguenze indesiderate; pertanto negli ultimi 30 anni si è cercato di identificare in epoca prenatale i test di screening che consentono di selezionare, nella popolazione generale delle gestanti, un ristretto gruppo di donne ad alto rischio a cui offrire i test diagnostici invasivi (5).

Queste gestanti, informate sulla propria situazione di elevato rischio, possono quindi decidere se sottoporsi ai successivi test di diagnosi prenatale invasiva in modo da identificare (oppure escludere) l'anomalia cromosomica per cui il rischio è risultato aumentato.

Alla fine degli anni '80 è stata introdotta una nuova metodica di screening che teneva in considerazione l'età materna e la concentrazione di alcuni fattori di origine feto-placentare nel sangue periferico materno. A 16 settimane il dosaggio di alfa-fetoproteina (AFP), estriolo non coniugato (μE_3), gonadotropina corionica umana (free- β e totale), significativamente differenti nei feti affetti da trisomia 21, permette di identificare il 50-70% dei feti con SD (tri-test).

Negli anni '90 è stato introdotto lo screening basato sulla associazione tra età materna e spessore della translucenza nucale fetale a 11-13⁺⁶ settimana di gravidanza, metodica in grado di identificare il 75% dei feti affetti da trisomia 21.

Negli anni successivi è stato studiato come la combinazione tra età materna, translucenza nucale fetale e marcatori biochimici su siero materno (free- β -hCG e PAPP-A – Proteina A plasmatica associata alla gravidanza) nel I trimestre, possa identificare l'85-90% dei feti affetti da trisomia 21. Dal 2001 sono stati identificati altri markers ecografici fetali, in particolare la presenza dell'osso nasale, in grado di migliorare la sensibilità del test di screening combinato del I trimestre fino ad oltre il 95%.

I test di screening prenatale per la SD si avvalgono quindi di marcatori, che possono essere:

- “marcatori biochimici”, cioè sostanze prodotte dall'embrione o dal feto o dai tessuti placentari che possono essere dosate nel sangue materno.

- “marcatori ecografici”, cioè strutture anatomiche dell’embrione o del feto che presentano caratteristiche particolari in presenza di anomalie cromosomiche.

Per i marcatori, sia ecografici che biochimici, non è possibile fornire intervalli di valori normali a cui fare riferimento, poiché tutti evolvono con l’età gestazionale. Per ogni età gestazionale esiste un valore mediano nella distribuzione dei valori ottenuti per ogni singolo marcatore nella popolazione generale: tale valore mediano viene assunto come valore ottimale e tutte le misurazioni vengono rapportate ed esso. Il rapporto tra il valore misurato nella singola paziente ed il corrispondente valore mediano alla stessa epoca gestazionale è il Multiplo della Mediana (Multiple of the Median o MoM).

Marcatori biochimici

I marcatori biochimici più comunemente utilizzati sono:

1. la alfa-fetoproteina (AFP), principale proteina del plasma fetale affine all’albumina, è prodotta dal sacco vitellino embrionale e poi dal fegato fetale; a 15-20 settimane è tipicamente più bassa (del 30% circa) nella gravidanza con feto affetto da trisomia 21 (6);
2. la gonadotropina corionica umana (hCG), glicoproteina dimerica, è composta da due sub-unità α e β , ed è prodotta dal trofoblasto; a 15-20 settimane è tipicamente più elevata (circa doppia) nella gravidanza con feto affetto (7);
3. la frazione β libera della gonadotropina corionica umana (free β hCG) è tipicamente più elevata (circa doppia) nella gravidanza con feto affetto

e rimane elevata per un lungo periodo che va dalle 10 alle 20 settimane (7);

4. l'estriolo libero o non-coniugato (uE3) è prodotto a livello placentare dalla trasformazione di un ormone steroideo sintetizzato dalla ghiandola surrenale fetale e idrossilato dal fegato fetale; a 15-20 settimane è tipicamente più basso (del 30% circa) nella gravidanza con feto affetto (7);

5. la inibina A (Inh-A), è una glicoproteina placentare che tra le 15 e le 20 settimane ha livelli aumentati del 70-80% in caso di gravidanza con feto affetto (8);

6. la proteina plasmatica A associata alla gravidanza (PAPP-A), enorme macromolecola glicoproteica costituita da più frazioni, è prodotta dal trofoblasto in quantità molto minori (del 60% circa) nelle gravidanze con feto affetto (9).

Marcatore ecografici

- **Translucenza nucale (NT)** è il termine utilizzato nel I trimestre di gravidanza per indicare i tessuti molli retronucali del feto: rappresenta la manifestazione ecografica dell'accumulo di fluido dietro la nuca fetale e viene utilizzata indipendentemente dal fatto che sia settata oppure no e che sia confinata alla regione del collo fetale o che ricopra interamente il feto. La misura dello spessore della NT nel primo trimestre è il marcatore ecografico di SD più diffusamente utilizzato poiché è noto che nelle gravidanze affette da trisomia 21 tale spessore è prevalentemente aumentato, circa doppio rispetto alle gravidanze con feto normale di pari età gestazionale (10). L'aumento della translucenza nucale è associato

alla trisomia 21, alla sindrome di Turner ed ad altre cromosomopatie, ma può essere causata anche da malformazioni fetali e da sindromi genetiche.

La misurazione della NT deve essere eseguita tra le 11+0 e le 13+6 settimane, con una lunghezza vertice-sacro minima di 45 mm e massima di 84 mm, secondo le indicazioni della Fetal Medicine Foundation (11) e della SIEOG (12).

I criteri riconosciuti a livello internazionale per la determinazione dello spessore della NT sono quelli suggeriti dalla Fetal Medicine Foundation (Fig.1,2):

- il feto deve essere in posizione neutrale (non iperesteso, in questo caso lo spessore risulterebbe sovrastimato, non iperflesso nel qual caso lo spessore risulterebbe sottostimato);
- l'ingrandimento deve essere tale per cui l'immagine deve contenere solo la testa e la parte superiore del torace del feto;
- l'immagine deve corrispondere alla sezione medio- sagittale del viso fetale, ovvero nella scansione in cui si misura la NT, devono essere visibili anche l'osso frontale, l'osso nasale, l'osso mascellare e il diencefalo;
- i puntatori devono essere posizionati nel punto di massimo spessore delle linee che delimitano la NT, cioè sulla linea che corrisponde alla cute fetale da un lato e sulla linea che definisce i tessuti che ricoprono la colonna vertebrale fetale dall'altro;
- è indispensabile distinguere la cute fetale dall'amnios;

- è necessario effettuare almeno 3 misurazioni ed utilizzare per il calcolo del rischio quella di spessore maggiore, cioè quella che, nella stima del rischio, ci prospetta l'ipotesi peggiore.

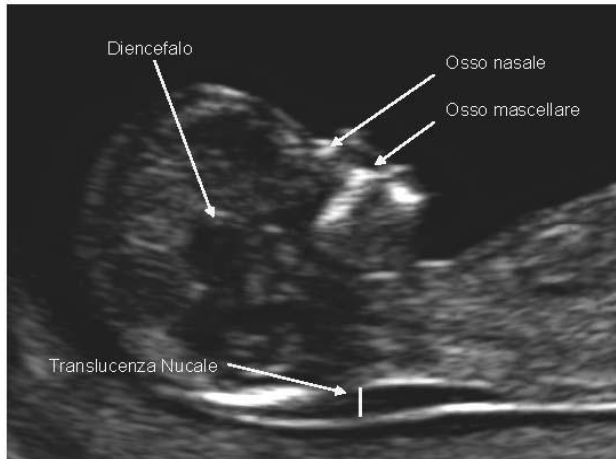


Figura 1
La sezione medio-sagittale del feto: tecnica di misurazione della translucenza nucale.



Figura 2
Translucenza nucale aumentata

Lo spessore della NT è indipendente dall'etnia, dalla parità, dall'abitudine al fumo, dalla modalità del concepimento (gravidezze insorte spontaneamente e gravidanze ottenute con tecniche di procreazione medicalmente assistita) e, nella maggior parte dei feti con cariotipo normale, aumenta con l'età gestazionale, ovvero con la misura della LVS.

Affinché la NT abbia una buona accuratezza diagnostica e possa essere utilizzata nello screening delle aneuploidie, è necessario che la misurazione venga effettuata secondo criteri codificati e da operatori che abbiano seguito un training appropriato. Diversi studi hanno dimostrato che una revisione continua delle immagini ed un controllo della distribuzione delle misurazioni della NT sono essenziali per valutare la qualità dell'operatore. La variabilità intra-operatore viene ridotta notevolmente dopo una fase iniziale di apprendimento e dopo che l'ecografista ha ricevuto i risultati del controllo della distribuzione delle sue misurazioni e della qualità delle sue immagini (13,14).

- **Altri marcatori ecografici nel primo trimestre** : sono stati studiati e proposti altri marcatori ecografici nel primo trimestre e quelli attualmente ritenuti più validi sono la valutazione dell'osso nasale, del rigurgito tricuspide, del dotto venoso e la misurazione dell'angolo facciale (fetal facial angle) (3,15). Il loro utilizzo, al momento, è rivolto soprattutto ai casi risultati a rischio aumentato con la misurazione della translucenza nucale ed è limitato ai Centri di riferimento.

a- Assenza dell'osso nasale: nel periodo compreso tra le 11 e le 13+6 settimane, il profilo fetale può essere esaminato con successo in più

dei 95% dei casi (16). Nei feti con cariotipo normale l'incidenza di assenza dell'osso nasale è meno dell'1% nella popolazione Caucasica e circa il 10% in quella Afro-Caraibica (17). L'osso nasale è assente nel 60-70% dei feti affetti da trisomia 21, circa nel 50% dei feti con trisomia 18 e nel 30% dei feti con trisomia 13 (15). Per una percentuale di falsi positivi del 5%, la valutazione dell'osso nasale può aumentare la sensibilità del test combinato del I trimestre al 95% nell'identificare i feti affetti da trisomia 21. (18)

b- Lunghezza dell'osso mascellare: studi antropometrici e radiologici in pazienti affetti da trisomia 21 hanno dimostrato che in più del 50% dei casi vi è un iposviluppo mascellare (19). La mediana della lunghezza dell'osso mascellare, visualizzato e misurato a 11-13⁺⁶ settimane, nei feti affetti da trisomia 21 è significativamente inferiore alla normale mediana di circa 0,7 mm (20). Rimane comunque ancora da determinare il contributo dell'osso mascellare nello screening del I trimestre.

c- Arteria ombelicale unica: a 11-13⁺⁶ settimane di gravidanza la presenza di un'arteria ombelicale unica viene riscontrata nel 3% dei feti con cariotipo normale e nell'80% dei feti con trisomia 18 (rischio sette volte maggiore); al contrario il riscontro di un'arteria ombelicale unica non modifica il rischio di trisomia 21 stimato in base all'età materna e all'NT (21).

d- Megavesicica: la megavesicica fetale, nel I trimestre, è definita come diametro longitudinale della vescica maggiore o uguale di 7 mm. La megavesicica fetale si associa ad un aumento della translucenza

nucale, con un'incidenza di difetti cromosomici, in particolare trisomia 13 e 18, di circa il 20% (22).

e- Frequenza cardiaca fetale (FHR): a 11-13⁺⁶ settimane di gravidanza la sindrome di Turner e la trisomia 13 si presentano con tachicardia fetale, nella trisomia 18 e nella triploidia si evidenzia bradicardia fetale e nella trisomia 21 un lieve aumento della FHR (23).

f- Doppler del dotto venoso: il dotto venoso è uno shunt unico che conduce in sangue ossigenato proveniente dalla vena ombelicale nell'atrio di destra, e da qui nella circolazione coronaria e cerebrale attraverso il forame ovale. A 11-13⁺⁶ settimane un'anomalia di flusso nel dotto venoso è associata a difetti cromosomici, malformazioni cardiache e prognosi fetale sfavorevole (24,25). Studi hanno dimostrato che nel I trimestre un'anomalia del dotto venoso è presente nell'80% dei feti con trisomia 21 e nel 5% dei feti con cariotipo normale (15). La valutazione del dotto venoso può quindi essere combinata con la misurazione della translucenza nucale per migliorare l'efficacia dello screening ecografico per la trisomia 21.

Poiché non esiste il "marcatore perfetto", capace di identificare da solo la maggior parte delle gravidanze affette, i marcatori indicati vengono correntemente utilizzati in associazioni predeterminate ed indicate con specifiche denominazioni, allo scopo di eseguire lo screening nel primo trimestre (duo-test e test combinato) o nel secondo trimestre (bi-test, tritest, quad-test) o nel primo e nel secondo trimestre (test integrato

biochimico, test integrato senza inibina A, test integrato completo) della gravidanza (26-31).

I più utilizzati test di screening prenatale per la SD sono attualmente:

1. **il test combinato:** il dosaggio della proteina plasmatica A associata alla gravidanza e della frazione β libera della hCG (PAPP-A e free- β hCG) si esegue a 11-13+6 settimane contestualmente ad un esame ecografico per la misura della lunghezza vertice-sacro dell'embrione e la misura ecografica della translucenza nucale (NT), da parte di operatore accreditato da idonea società scientifica e sottoposto a verifica esterna della qualità (VEQ);
2. **il test integrato:** alle gestanti sottoposte ad esame ecografico ed idonea misura di NT (come per test combinato), si eseguono il dosaggio di PAPP-A a 11-13 settimane e poi il tri-test (o il quad-test) a 15-18 settimane con espressione del rischio solo dopo il secondo prelievo;
3. **il test integrato biochimico:** alle gestanti sottoposte ad esame ecografico per la sola datazione nel I trimestre si eseguono dosaggio di PAPP-A a 11-13 settimane e poi il tri-test (o il quad-test) a 15-18 settimane con espressione del rischio solo dopo il secondo prelievo;
4. **il tri-test:** dosaggio di alfa-fetoproteina, estriolo libero e gonadotropina corionica (AFP, uE3 ed hCG) a 15-18 settimane di gravidanza, ecograficamente dimostrate;
5. **il quad-test:** dosaggio di alfa-fetoproteina, estriolo libero, gonadotropina corionica e inibina A (AFP, uE3, hCG e Inh-A) a 15-18 settimane di gravidanza, ecograficamente dimostrate.

Nel secondo trimestre la hCG o la sua frazione β libera possono essere usate indifferentemente.

I test di screening che comprendono il dosaggio di AFP nel secondo trimestre consentono di valutare anche il rischio per la spina bifida aperta, principale forma clinica dei difetti del tubo neurale.

Per poter confrontare i risultati degli studi sull'efficienza dei diversi test è necessario definire a priori un tasso fisso di test positivi e valutare la sensibilità che ne consegue: la tabella 3 presenta la sensibilità (DR%) delle diverse strategie negli studi SURUSS (32) e FASTER (33) al 5% di test positivi.

TABELLA 3

SENSIBILITÀ (DR%) DELLE DIVERSE STRATEGIE DI SCREENING
(STUDI SURUSS E FASTER)

Tipo di test	DR per un tasso di test positivi del 5%	
	SURUSS ^a	FASTER ^b
Solo età	25%	28%
Età più:		
<i>Primo trimestre</i>		
misura NT	60%	70%
misura NT + f β	83%	87%
<i>Secondo trimes</i>		
Tri-test	74%	69%
Quad-test	81%	81%
<i>Primo trimestre</i>		
Integrato	92%	
Integrato	93%	96%
Integrato	85%	
Integrato biochimico completo (PAPP- A+quad-test)	89%	88%

^a 16% gestanti \geq 35 anni, prevalenza Sindrome di Down 1/465;

^b 21,6% gestanti \geq 35 anni, prevalenza Sindrome di Down 1/326.

Se si mettono a confronto i risultati delle diverse strategie, si nota che la misura della NT è l'unico marcatore che può offrire da solo una certa efficienza: i risultati migliori si ottengono con l'adesione degli operatori a specifici criteri di qualità. Tuttavia i recenti trials condotti nel Regno Unito (32) e negli Stati Uniti (33) dimostrano che la sensibilità per la SD è certamente più alta, con un basso tasso di test positivi, quando la misura della NT è combinata con i marcatori biochimici del primo trimestre (83-87% con 5% di test positivi).

La sola misura della NT può essere utile nella valutazione delle gravidanze gemellari per le quali gli screening biochimici sono meno accurati (bigemine) rispetto alle gravidanze con un feto solo, oppure quando questi non sono utilizzabili (tre feti o più).

SCREENING “COMBINATO” ECOGRAFICO-BIOCHIMICO DEL PRIMO TRIMESTRE

La combinazione di età materna, NT e marcatori biochimici (PAPP-A e free β -hCG) nel primo trimestre è un test molto efficiente per la SD come hanno dimostrato diversi ampi studi multicentrici (32-35) i cui risultati sono riportati nella tabella 4. Questa strategia, denominata “test combinato”, consente di ottenere nel primo trimestre una DR superiore all'80%, per le donne di età inferiore ai 35 anni, con un tasso di test positivi del 5%. Per le donne di età superiore a 35 anni la sensibilità è di circa il 90%, ma aumenta il tasso dei test positivi: 16-22% a seconda degli studi e del cut-off adottato. Il test combinato è molto efficace anche

per la trisomia del cromosoma 18: a tutte le età, la DR per la trisomia 18 è del 90%, con un tasso di test positivi del 2% (35).

TABELLA 4
SENSIBILITÀ DEL TEST COMBINATO DEL PRIMO TRIMESTRE^a
A SECONDO DIVERSI STUDI

Studio	n° gestanti	n° casi S. di Down	Detection rate ^b
SURUSS (13)	47.053	101	83%
FASTER (14)	33.557	84	83%
OSCAR (29)	15.030	82	90%
BUN (30)	8.216	61	79%
Totale	103.856	328	84%

^a la DR è calcolata al primo trimestre: ciò comporta una sovrastima dell'efficienza a causa dell'abortività spontanea elevata nelle gravidanze affette (circa 50% tra le 12 settimane ed il termine di gravidanza).

^b IC al 95%: 79,7-87,0%.

Se la donna sceglie il test combinato e risulta a rischio aumentato di anomalia cromosomica può avere un counselling e l'offerta di un test diagnostico nel primo trimestre (CVS); se la procedura diagnostica del primo trimestre non è disponibile la donna potrà aspettare il secondo trimestre e sottoporsi all'amniocentesi. Il test di screening del primo trimestre non valuta il rischio per le malformazioni aperte del sistema nervoso centrale (anencefalia e spina bifida). Uno screening ecografico oppure biochimico (dosaggio di AFP su siero materno) per tali malformazioni potrebbe quindi essere offerto separatamente nel secondo trimestre alle donne che hanno scelto il test combinato.

Le gestanti nelle quali è stata rilevata una misura di NT aumentata cioè superiore al 99° centile, oppure a 3,5 mm, oppure a 2,0 MoM (a seconda della modalità di espressione) nel primo trimestre, anche se risultate negative allo screening o con cariotipo normale al test diagnostico, dovrebbero essere sottoposte ad ulteriori accertamenti in quanto a

rischio maggiore di malformazioni strutturali e/o patologie sindromiche (36-38).

Le donne con marcatori biochimici anomali, così come quelle con NT aumentata, possono avere un aumentato rischio di esiti sfavorevoli della gravidanza come aborto spontaneo prima delle 24 settimane, morte endouterina, basso peso alla nascita, parto prematuro (39-42). Peraltro al momento non ci sono dati che indichino se e quale sorveglianza nel corso della gravidanza possa essere utile per migliorare l'esito ostetrico di queste pazienti.

SCREENING “INTEGRATO” DEL PRIMO E DEL SECONDO TRIMESTRE

L'approccio “integrato” allo screening utilizza i marcatori del primo e del secondo trimestre per personalizzare il rischio di SD legato all'età materna (43). Il risultato è reso noto solo dopo il prelievo del secondo trimestre. Nello studio SURUSS (Serum, Urine, and Ultrasound Screening Study) (32) la sensibilità del test integrato è del 93% con 5% di test positivi. Nello studio FASTER (First And Second Trimester Evaluation of Risk) (33) sono descritti risultati simili (DR 96% per 5% di test positivi).

Raffinare l'interpretazione nel secondo trimestre usando ulteriori marcatori porta effettivamente ad aumentare la sensibilità e a ridurre il numero di test positivi (44).

Il test integrato può essere realizzato con i soli marcatori biochimici del primo e del secondo trimestre, senza la misura della NT, con una modesta riduzione della sensibilità (85-88% nello studio FASTER, 85-89% nello studio SURUSS). Questa possibilità è la soluzione ideale per le gestanti che non possono accedere ad una adeguata misura della NT. Un recente trial mediante il test integrato biochimico in una popolazione con limitato accesso al test diagnostico del primo trimestre ha dimostrato l'adesione della maggior parte delle donne a tale strategia (45).

Se l'obiettivo è quello di fornire la più alta sensibilità con il più basso tasso di test positivi, il test integrato è quello più efficace.

Un basso tasso di test positivi significa un minor numero di test diagnostici invasivi ed anche un minor numero di perdite fetali legate alla procedura invasiva nelle gravidanze non affette. Sebbene alcune pazienti apprezzino uno screening precoce, altre accettano di aspettare poche settimane, se questo si traduce in una maggior sensibilità ed in una ridotta probabilità di accedere eventualmente a procedure di diagnosi invasiva (46).

Le critiche al test integrato riguardano la possibile ansia generata dall'attesa di 3-4 settimane tra il primo ed il secondo prelievo e la mancata possibilità di sottoporsi a CVS nel caso in cui il rischio fosse aumentato già nel primo trimestre (47). Deve essere considerata tra gli svantaggi anche l'eventualità che la paziente eluda la seconda parte del test e rimanga senza alcun risultato dello screening.

LO SCREENING NELLE GRAVIDANZE MULTIPLE

Tutti i test di screening biochimici non sono altrettanto sensibili (48) nelle gravidanze bigemine o trigemine. Nelle gravidanze gemellari dicoriali la sensibilità (75-80%) e la percentuale di falsi positivi (5% per ciascun feto e 10% per ciascuna gravidanza) della translucenza nucale nello screening per la trisomia 21 sono simili a quelle delle gravidanze con feto singolo (49,50). Il rischio di trisomia 21 specifico per ogni paziente viene calcolato per ciascun feto sulla base dell'età materna e dello spessore della translucenza nucale, in quanto meno attendibili i valori dei marcatori biochimici su sangue materno.

Per quanto riguarda le gravidanze monocoriali il cariotipo è in genere concordante, ma bisogna ricordare che i valori medi della NT sono più alti nelle coppie di gemelli monocoriali per vari motivi, tra cui la presenza di malformazioni o il rischio di sviluppare forme severe di sindrome da trasfusione "da gemello a gemello" (twin-to-twin syndrome) (51). La percentuale di falsi positivi dello screening (8% per ciascun feto e 14% per ciascuna gravidanza) risulterà quindi più elevata rispetto alle gravidanza dicoriali.

La misura della NT può essere eseguita anche nelle gravidanze multiple di maggiore grado (trigemine e oltre) ed utilizzata come test di screening in questi casi, anche se è consigliabile che le donne siano correttamente informate e che la diagnosi prenatale venga gestita in Centri ad alta esperienza.

SCELTA FRA LE DIVERSE STRATEGIE DI SCREENING

La stima del rischio individuale di anomalie cromosomiche ottenibile con un test di screening fornisce alla paziente uno strumento che consente di prendere le decisioni il più consapevolmente possibile nell'ambito della diagnosi prenatale.

Lo scopo principale è offrire i test con più alta sensibilità e più basso tasso di test positivi e di mettere la donna nella condizione di fruire della procedura diagnostica che preferisce. E' consigliabile informare tutte le donne, indipendentemente dall'età, della differenza tra un test di screening e un test diagnostico; a tutte dovrebbe essere offerta la possibilità di considerare i vantaggi e gli svantaggi dell'uno e dell'altro. Devono essere fornite tutte le informazioni sulla sensibilità e sulla percentuale dei test positivi, su vantaggi e svantaggi e sui limiti del test che si decide di offrire alle gestanti, così come bisogna saper dare precise indicazioni sui rischi legati alle procedure diagnostiche invasive, ma anche sulla certezza dei risultati della determinazione del cariotipo in modo che la decisione della paziente sia consapevole ed informata.

E' opportuno che l'informazione avvenga in un momento ben preciso della gravidanza ad opera di personale sanitario esperto e coinvolto nella gestione clinica della gravidanza stessa. Si ritiene quindi che il momento migliore per l'espletamento della procedura di informazione sia individuabile nel colloquio con il ginecologo e/o ostetrica curante nel corso del primo controllo clinico in gravidanza, in modo che sia possibile

riparlarne prima del momento utile per le determinazioni dei marcatori (31).

Le donne devono essere chiaramente informate che lo screening per la SD fornisce una stima individuale del rischio, ma che esso non è diagnostico e non identifica tutti i tipi di anomalia cromosomica.

Al confronto con i test di screening, il principale vantaggio dei test diagnostici invasivi è che consentono di individuare le trisomie, le anomalie dei cromosomi sessuali, le delezioni ed i mosaicismi. Alcune pazienti, specialmente in presenza di un'anamnesi familiare positiva per anomalie cromosomiche o malattie genetiche o malformazioni congenite, possono giovare di un colloquio con un genetista o con uno specialista in medicina prenatale: queste gestanti, informate su vantaggi e svantaggi, possono optare per un test diagnostico anche senza eseguire un test di screening.

Nel caso in cui la gestante effettui il primo controllo clinico nel secondo trimestre la scelta è limitata al tri-test (o al quad-test), seguito dall'esame ecografico per screening malformativo da effettuarsi a 19-21 settimane di età gestazionale, mentre a chi chiede l'assistenza prenatale fin dal primo trimestre può essere offerta una strategia che associ i marcatori ecografici e biochimici del primo trimestre, eventualmente integrati con quelli biochimici del secondo trimestre.

Il referto di ogni test di screening deve fornire i risultati nella loro completezza (3, 12,30) e quindi comprendere:

- 1) la datazione della gravidanza (è raccomandata una datazione ecografica);

- 2) il valore assoluto dei marcatori biochimici e/o ecografico e l'espressione in multipli del valore mediano: per i primi bisognerebbe indicare se si è tenuto conto del peso della gestante e dell'abitudine al fumo;
- 3) l'espressione numerica del rischio a priori legato all'età;
- 4) l'espressione numerica del rischio "personalizzato" in base all'età e alla determinazione dei marcatori;
- 5) l'epoca gestazionale in relazione alla quale tali rischi sono calcolati (vedi Tab. 1).

La comunicazione di un rischio numerico dopo il test di screening consente alla donna ed al suo partner di fare un bilancio tra il rischio di avere un bambino con quel particolare problema ed il rischio delle conseguenze delle procedure diagnostiche invasive: spesso è utile contrapporre a questo rischio personalizzato quello della popolazione generale e quello legato alla sola età, noti prima di eseguire lo screening.

Anche nel momento della comunicazione del risultato dello screening, il counselling non deve mai essere direttivo (47). E' preferibile che l'informazione fornita, così come la scelta della donna, sia documentata anche in forma scritta.

MATERIALI E METODI

Nel nostro studio lo screening è iniziato il 20 febbraio 2009 ed un audit è stato eseguito per pazienti esaminate tra il 20 febbraio 2009 ed il 18 dicembre 2009. In questo periodo sono state esaminate 131 pazienti afferite al Servizio di Ecografia dell'Azienda USL di Parma.

Le pazienti hanno scelto di sottoporsi allo screening delle anomalie cromosomiche mediante il test combinato dopo avere eseguito un colloquio informativo ad opera di personale sanitario esperto e coinvolto nella gestione clinica della gravidanza stessa.

La procedura di informazione è stata effettuata da parte del ginecologo e/o dell'ostetrica, oralmente e con materiale cartaceo di supporto, nel corso del primo controllo clinico in gravidanza. Durante il colloquio l'operatore ha fornito alla paziente informazioni sui test di screening e diagnostici attualmente disponibili per la diagnosi prenatale delle anomalie cromosomiche, esponendo le differenze tra un test di screening ed un test diagnostico, illustrando la metodologia degli esami e l'accuratezza diagnostica degli uni e degli altri. Alle pazienti che correttamente informate hanno deciso di eseguire il test combinato è stato proposto di effettuare il bitest tra la 10° la 13° settimana di gravidanza, e la misurazione della translucenza nucale tra la 11° e la 13° settimana di gravidanza. Il prelievo è stato effettuato presso i Poliambulatori dell'Azienda Ospedaliera di Parma, e i marcatori biochimici sono stati analizzati presso il Laboratorio di Analisi dell'Azienda Ospedaliera di Parma.

Il dosaggio dei marcatori biochimici su sangue materno è stato eseguito mediante il sistema Immulite (Siemens Healthcare). I valori dei marcatori biochimici sono espressi come rapporto tra il valore misurato nella singola paziente ed il corrispondente valore mediano alla stessa epoca gestazionale, ovvero come Multiplo della Mediana (MoM).

La valutazione ecografica è stato effettuata presso il Servizio di Ecografia dell'Azienda USL di Parma tra la 11 settimana +5 gg e la 13 settimana+5gg di gravidanza, con una lunghezza vertice-sacro minima di 45 mm e massima di 84 mm, secondo le indicazioni della Fetal Medicine Foundation. L'ecografia è stata eseguita per via addominale con sonda 3.5 MHz, con un ecografo Aloka α 10 nel 95% dei casi; nel restante 5% dei casi, a causa dell'elevato BMI materno o della posizione fetale sfavorevole, l'esame è stato condotto per via transvaginale utilizzando una sonda da 6.5 MHz. Il tempo medio dell'esecuzione dell'esame è stato di 15' minuti.

Gli operatori che hanno effettuato l'esame sono stati dalla Fetal Medicine Foundation e sono periodicamente sottoposti a controlli di qualità. La misurazione della translucenza nucale è stata eseguita secondo i criteri suggeriti dalla Fetal Medicine Foundation e riconosciuti a livello internazionale.

L'elaborazione matematica mediante analisi multivariata dei risultati porta al calcolo di un coefficiente di probabilità (likelihood ratio) specifico per la gravidanza in esame. Il test combinato è stato considerato "positivo", ovvero "ad alto rischio", quando il rischio fornito dal test è risultato superiore ad un cut-off di 1/250 al momento dell'esame. La

translucenza nucale è stata definita aumentata quando lo spessore della plica nucale è risultato superiore al 95°P per i range di normalità stabiliti dalle mediane fornite dalla Fetal Medicine Foundation.

Prima di eseguire l'indagine ecografica, le pazienti hanno firmato un consenso informato relativo allo screening delle anomalie cromosomiche mediante test combinato.

Nei casi in cui il rischio del test combinato è risultato superiore al cut-off prescelto (1/250), è stata offerta alla paziente la possibilità di sottoporsi ad una procedura invasiva (villocentesi o amniocentesi).

Nei casi in cui la translucenza nucale è risultata superiore al 95°P, indipendentemente dalla determinazione del cariotipo, è stato consigliato alla paziente di effettuare una dettagliata ecografia morfologica comprensiva di ecocardiografia alla 20-22° settimana di gravidanza. Nei casi in cui la translucenza nucale è risultata superiore al 99°P (3.5 mm), lo studio dell'anatomia fetale è stato condotto a 16 settimane successivamente ripetuto a 20-22 settimane.

La valutazione ecografica nei casi con NT aumentata è stata effettuata presso l'ambulatorio di Diagnosi Prenatale della Clinica Ostetrica di Parma, o presso l'ambulatorio di Ecografia dell'Azienda USL.

Al fine di definire l'attendibilità del test combinato, sono stati raccolti i dati relativi all'outcome della gravidanza per quelle pazienti che hanno partorito entro il 30 novembre 2009. Le informazioni sono state ottenute o telefonicamente o mediante i dati inseriti nel database Aziendale. Sono stati valutati: il numero di procedure invasive eseguite dopo il test

combinato, l'esito della gravidanza e del parto, il peso del bambino alla nascita la presenza di eventuali malformazioni.

Durante la visita di controllo del puerperio, è stato proposto alle pazienti un questionario (fig.1), al fine di valutare la chiarezza delle informazioni ricevute, il grado di accettazione e di gradimento del test, e se l'indagine era stata a loro parere utile per la gravidanza.

Fig.1

- E' stata adeguatamente informata prima di scegliere di eseguire il test combinato per lo screening delle anomalie cromosomiche?
- Chi Le ha consigliato di scegliere tale tipo di esame?
- Ritiene che il risultato dell'esame Le sia stato comunicato in modo chiaro e comprensibili?
- In una gravidanza successiva, ripeterebbe un test combinato per lo screening delle anomalie cromosomiche?

RISULTATI

Sono state incluse nello studio 131 pazienti, di cui 129 portatrici di gravidanza singola e 2 portatrici di gravidanza gemellare bicoriale biamniotica. Le pazienti esaminate hanno un'età compresa tra 21 e 39 anni, con una età media di 31.5 anni.

Le pazienti sono di razza bianca nel 91% dei casi, nera nel 7.6% dei casi ed asiatica nel 1.5% dei casi. La mediana del peso corporeo delle pazienti gravide esaminate, al momento della valutazione ecografica, è di 60 Kg (Tab. 1).

Tabella 1. Dati anagrafici analizzati in termini di mediana e percentuale.

	N° casi = 131
Età (mediana)	31.5
Età ≥ 35 anni	16.8 %
Razza bianca	91 %
Razza nera	7.6 %
Razza asiatica	1.5 %
Peso corporeo Kg (mediana)	60

Le misura della translucenza nucale sono espresse come differenza assoluta dal valore mediano atteso per ciascuna epoca gestazionale.

La percentuale di casi con misurazioni della NT superiori alla mediana è stata del 61.7 %, con un 6 % di casi con misurazioni superiori al 95°P.

La percentuale dei casi compresi in ogni variazione di percentile è riportata nella seguente tabella (Tab 2).

N° casi = 131	> Mediana	< 5°P	> 95° P	> 3.5 mm
Traslucenza nucale	31.5 %	0 %	6 %	0 %

Tab. 2. Dati della NT espressi in percentuale.

I valori biochimici del siero materno sono espressi come multipli della mediana attesa per l'epoca gestazionale. La mediana dei valori di free β -hCG è pari a 0.99 MoM; la mediana dei valori della PAPP-A è di 0.99 MoM. I valori delle mediane, del 5°- 95° percentile e le percentuali dei casi al di fuori degli attesi 5°/ 95° percentile sono mostrati nella seguente tabella (Tab 3).

N° casi = 131	Mediana	5°P	95° P	> 95°P
Free β -hCG (MoM)	0.99	0.34	2.7	6.6%

N° casi = 131	Mediana	5°P	95° P	< 5°P
PAPP-A (MoM)	0.99	0.36	2.62	10.7 %

Tab. 3. Distribuzione dei marcatori biochimici

Le pazienti contattate telefonicamente a termine di gravidanza alla fine di novembre 2009 sono state 23, escludendo le donne che non hanno risposto alla chiamata telefonica.

Dalla valutazione dei dati raccolti è emerso che 21 pazienti (91.3%) hanno avuto gravidanze fisiologiche senza complicazioni materne e/o fetali. Il peso medio dei bambini alla nascita è stato di 3269 +/- 423 gr, con un peso minimo di 2200 gr e massimo di 4300 gr.

Una paziente ha abortito nella settimana successiva alla villocentesi eseguita per un rischio aumentato di trisomia 21 (1/156).

Una paziente, con NT di 3.3 mm, cariotipo femminile normale, anatomia e biometria fetali normali a 20 settimane, ha interrotto all'estero la gravidanza per il sospetto ecografico a 32 settimane di acondrodisplasia fetale; dato confermato dalle indagini di biologia molecolare eseguite successivamente sul materiale prelevato al momento della villocentesi.

Dalla valutazione del questionario proposto, è emerso che le pazienti sono state indirizzate all'esecuzione della translucenza nucale nel 90% (n=118) dei casi dal ginecologo/ostetrica curante, nel 2% dei casi (n=3) dal medico di base e da altri fattori (giornali, amici) nel 7.3% dei casi (n=10) . Il 93% delle donne (n=122) riferisce di avere avuto un'adeguata informazione prima di eseguire l'esame, mentre il 97% (n=127) dichiara di avere avuto un'informazione chiara sull'esito dell'esame. Circa l'89% (n=116) delle donne ha ritenuto il test utile nel percorso della gravidanza, ed il 97% (n=127) lo ripeterebbe come test di screening per le anomalie cromosomiche in una gravidanza successiva.

DISCUSSIONE

Le anomalie cromosomiche sono la causa principale di mortalità perinatale e di handicap neonatale.

Lo screening prenatale per la sindrome di Down mediante l'associazione tra marcatori ecografici (NT) e biochimici rappresenta un esempio di appropriatezza di medicina preventiva, tanto che è stato recepito da diverse società scientifiche come il metodo più efficace da proporre alle gestanti (29). Il test combinato consente di selezionare un ristretto gruppo di gravide (circa il 5%, indipendentemente dall'età materna) a cui riservare l'offerta della diagnosi invasiva, perché risultate ad alto rischio di avere un figlio affetto da un'anomalia cromosomica.

Responsabilità del medico è quella di informare la coppia delle differenze tra un test di screening ed un test diagnostico, di considerare i vantaggi e gli svantaggi dell'uno e dell'altro, ed ogni coppia dovrebbe poter scegliere in base alle proprie convinzioni etiche e religiose, in base alla propria storia familiare/personale, quale sia il percorso più adeguato per sé.

Esistono ormai numerosi dati in letteratura che dimostrano come il test combinato sia un valido strumento per lo screening delle aneuploidie (15,52,53). Partendo dal rischio di background (età materna), la misurazione della translucenza nucale ed il dosaggio della concentrazione sierica materna di free- β -hCG e PAPP-A, consentono di identificare i feti affetti da trisomia 21 con una sensibilità del 90 % per un numero di falsi positivi del 5 %.

Scopo dello studio è stato quello di valutare la sensibilità del test combinato sulla nostra popolazione di gravide non selezionate, e di determinare se le informazioni ricevute sul test di screening erano state correttamente comprese dalle pazienti.

Il numero dei casi è ancora troppo limitato per avere una significatività statistica. Tuttavia l'analisi dei dati ha dimostrato che la distribuzione dei valori di NT è in accordo con quanto atteso dai dati forniti dalla FMF (62% di valori superiori alla mediana). L'incidenza dei falsi positivi è stata del 6%, cioè di poco superiore a quanto riportato in letteratura (5% di falsi positivi).

Un numero eccessivo di falsi positivi è derivato dal bitest. Infatti, la percentuale di valori di free- β hCG superiore al 95°P è risultata pari al 6.6%, e la percentuale di valori di PAPP-A inferiori al 5°P è stata del 10.7%.

Questo dato potrebbe essere riconducibile al numero ancora limitato dei casi esaminati in quanto, per ottenere una sufficiente stabilità dei valori mediani della distribuzione dei singoli marcatori, è necessario avere un numero di esami superiore agli attuali.

E' di fondamentale importanza contenere il numero dei falsi positivi, sia per evitare inutili stress psicologici alla coppia, sia per ridurre il numero delle procedure invasive con i rischi di abortività che queste comportano (4,54,55).

Il caso di acondroplasia conferma quanto già descritto in letteratura, ovvero come una NT aumentata non sia solo un fattore di rischio per le anomalie cromosomiche, ma anche un fattore di rischio per esiti

perinatali sfavorevoli quali anomalie fetali, morti endouterine e sindromi geniche (56,57). La possibilità di avere un feto/neonato sano dipende dallo spessore iniziale dello NT: maggiore è lo spessore della nuca, maggiore è l'incidenza sia di anomalie del cariotipo che di anomalie fetali. E' pertanto importante in presenza di una NT aumentata con cariotipo normale, effettuare un accurato esame dell'anatomia fetale. Se all'ecografia a 20 settimane non si evidenziano anomalie fetali e la NT si è normalizzata, la probabilità di avere un neonato sano è molto alta (56,57,58,59), anche se anomalie fetali ad insorgenza tardiva o rare sindromi geniche non possono essere escluse.

Momento importante nella diagnosi prenatale è l'informazione sui test di screening e/o diagnostici proposti. Le pazienti dello studio hanno dichiarato di avere ricevuto un'adeguata informazione prima dell'esecuzione dell'esame, relativa al significato, ai limiti ed alla sensibilità della metodica. Per garantire alla donna informazioni adeguate è necessario che tutti gli operatori sanitari coinvolti siano in grado di fornire spiegazioni che consentano alla coppia di decidere consapevolmente ed autonomamente quale percorso seguire.

E' rilevante che oltre il 97% di donne ripeterebbe il test combinato come test di screening in una gravidanza successiva.

Questo in accordo con quanto scritto in letteratura. Tra le donne che optano per i test di screening, la maggior parte preferisce i test del primo trimestre perché consentono di avere informazioni in un'epoca gestazionale più precoce con un minore impatto sia dal punto di vista psicologico che dal punto di vista medico.

E' inoltre importante sottolineare che effettuare l'ecografia del primo trimestre tra la 11° e 13° settimana di gravidanza consente oltre alla misurazione della NT, di definire il numero degli embrioni, di confermare la vitalità, di datare correttamente la gravidanza e di stabilire la corionicità in caso di gravidanze gemellari. La sempre maggiore esperienza degli operatori e l'impiego di apparecchiature più sofisticate consente di diagnosticare già nel primo trimestre alcune malformazioni fetali.

In conclusione, il test combinato nel primo trimestre di gravidanza rappresenta un importante test di screening delle anomalie cromosomiche, con un'elevata sensibilità nell'identificazione delle pazienti a basso rischio di cromosomopatia; questo permette di rassicurare molte donne che preferirebbero non essere sottoposte ad indagine invasiva se il rischio, valutato nel primo trimestre di gravidanza, è basso. Ne deriva che, il provvedere al mantenimento di elevati livelli di qualità nello screening del primo trimestre, consente di aumentare in maniera significativa il numero delle donne che preferiscono eseguire indagini di screening nella fase precoce della gravidanza, riducendo il ricorso alla diagnosi prenatale invasiva.

Inoltre, l'informazione adeguata e comprensibile nell'ambito della diagnosi prenatale, come pure la comunicazione chiara del risultato dello screening, risulta di fondamentale importanza nella scelta dell'iter diagnostico da parte della coppia.

BIBLIOGRAFIA e SITOGRAFIA

1. 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.
2. 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.
3. www.fetalmedicine.com
4. Faris Mujezinovic F, Alfirevic Z. Procedure-related complications of amniocentesis and chorionic villous sampling. A systematic review. *Obstet. Gynecol.*, 2007; 110: 687-94.
5. Altman DG, Bland JM. Diagnostic tests: predictive values. *BMJ*, 1994; 309: 102.
6. Merkatz IR, Nitowsky HM, Macri JN, Johnson WE. An association between low maternal serum alpha-fetoprotein and fetal chromosomal abnormalities. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1984; 148: 886-94.
7. Wald NJ, Kennard A, Hackshaw A, McGuire A. Antenatal screening for Down's syndrome. *Health Technol. Assess.*, 1998; 2 (1): i-iv, 1-112.
8. Spencer K, Wallace EM, Ritoe S. Second-trimester dimeric inhibin-A in Down's syndrome screening. *Prenat. Diagn.*, 1996; 16: 1101-10.
9. Malone FD, Berkowitz RL, Canick JA, D'Alton ME. First-trimester screening for aneuploidy: research or standard of care? *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2000; 182: 490-6.
10. Nicolaides KH, Heath V, Liao AW. The 11-14 week scan. *Baillieres Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.*, 2000; 14: 581-94.
11. Snijders RJ, Noble P, Sebire N, Souka A, Nicolaides KH. UK multicentre project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal-translucency thickness at 10-14 weeks of gestation. Fetal Medicine Foundation First Trimester Screening Group. *Lancet*, 1998; 352: 343-6.

12. www.sieog.it
13. Snijders RJ, Thom EA, Zachary JM, Platt LD, Greene N, Jackson LG et al. First-trimester trisomy screening: nuchal translucency measurement training and quality assurance to correct and unify technique. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, 2002; 19: 353-9.
14. Practice Bulletin. Screening for Fetal Chromosomal Abnormalities. Number 77, January 2007.
15. Nicolaides KH. Nuchal translucency and other first trimester sonographic markers of chromosomal abnormalities. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2004; 191: 45-67.
16. Cicero S, Curcio P, Papageorghiou A, Sonek J, Nicolaides KH. Absence of nasal bone in fetuses with trisomy 21 at 11-14 weeks of gestational: an observational study. *Lancet* 2001; 358: 1665-7.
17. Cicero S, Rembouskos G, Vandecruys H, Hogg M, Nicolaides KH. Likelihood ratio for trisomy 21 in fetuses with absent nasal bone at the 11-14 weeks scan. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004; 23: 218-23.
18. Cicero S, Sonek JD, McKenna DS, Croom CS, Johnson L, Nicolaides KH. Nasal bone hypoplasia in trisomy 21 at 15-22 weeks' gestational. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; 21: 15-8.
19. Farkas LG, Katic MJ, Forrest CR, Litsas L. Surface anatomy of the face in Down's syndrome: linear and angular measurements in the craniofacial regions. *J Craniofacial Surg* 2001; 12: 373-9.
20. Cicero S, Curcio P, Rembouskos G, Sonek J, Nicolaides KH. Maxillary length at 11-14 weeks gestational in fetuses with trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004; 24: 19-22.
21. Rembouskos G, Cicero S, Longo D, Sacchini C, Nicolaides KH. Single Umbilical Artery at 11-14 weeks: relation to chromosomal defects. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003;22: 567-70.
22. Liao AW, Sebire NJ, Geerts L, Cicero S, Nicolaides KH. Megacystis at 10-14 weeks of gestation: Chromosomal defects and outcome according to badder length. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003;21:338-41.

23. Liao AW, Snijders R, Geerts L, Spencer K, Nicolaides KH. Fetal heart rate in chromosomally abnormal fetuses. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2000; 16:610-13.
24. Matias A, Gomes C, Flack N, Montenegro N, Nicolaides KH. Screening for chromosomal abnormalities at 11-14 weeks: the role of ductus venosus blood flow. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998;2:380-4.
25. Borrel A, Martinez JM, Seres A, Borobio V, Cararach V, Fortuny A. Ductus venosus assessment at the time of nuchal translucency measurement in the detection of fetal aneuploidy. *Prenat Diagn* 2003; 23: 921-6.
26. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Antenatal care. Routine care for the healthy pregnant woman. London: RCOG, 2003.
27. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Antenatal screening for Down Syndrome. London: RCOG, 2003.
28. SOGC Clinical Practice Guidelines. Prenatal screening for fetal aneuploidy. 2007; 187: 146-161.
29. ACOG Practice Bulletin. Screening for fetal chromosomal abnormalities. 2007; 77: 217-227.
30. www.saperidoc.it
31. NICE Clinical Guideline; Antenatal care. March 2008.
32. Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, Walters J, Chitty L, Mackinson AM. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the Serum, Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS) [published erratum appears in *J. Med. Screen.*, 2006; 13: 51-2]. *J. Med. Screen.* 2003; 10: 56-104.
33. Malone F, Canick JA, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, Buckowski R et al. First-trimester or second trimester screening, or both, for Down's syndrome. First and Second-Trimester Evaluation of Risk (FASTER) Research Consortium. *N. Engl. J. Med.*, 2005; 353: 2001-11.
34. Spencer K, Souter V, Tul N, Snijders R, Nicolaides KH. A screening program for trisomy 21 at 10-14 weeks using fetal nuchal translucency, maternal serum free beta-human chorionic

- gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, 1999; 13: 231-7.
35. Wapner R, Thom E, Simpson JL, Pergament E, Silver R, Filkins K et al. First-trimester screening for trisomies 21 and 18. First Trimester Maternal Serum Biochemistry and Fetal Nuchal Translucency Screening (BUN) Study Group. *N. Engl. J. Med.*, 2003; 349: 1405-13.
36. Bahado-Singh RO, Wapner R, Thom E, Zachary J, Platt L, Mahoney MJ et al. Elevated first-trimester nuchal translucency increases the risk of congenital heart defects. First Trimester Maternal Serum Biochemistry and Fetal Nuchal Translucency Screening Study Group. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2005; 192: 1357-61.
37. Hyett J, Perdu M, Sharland G, Snijders R, Nicolaides KH. Using fetal nuchal translucency to screen for major congenital cardiac defects at 10-14 weeks of gestation: population based cohort study. *BMJ*, 1999; 318: 81-5.
38. Souka AP, Von Kaisenberg CS, Hyett JA, Sonek JD, Nicolaides KH. Increased nuchal translucency with normal karyotype. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2005; 192: 1005-21.
39. Dugoff L, Cuckle HS, Hobbins JC, Malone FD, Belfort MA, Nyberg DA, Comstock CH, Saade GR, Eddleman KA, Dar P, Craigo SD, Timor-Tritsch IE, Carr SR, Wolfe HM, D'Alton ME; FASTER Trial Research Consortium. Prediction of patient-specific risk for fetal loss using maternal characteristics and first- and second-trimester maternal serum Down syndrome markers. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2008; 199(3): 290.e1-290.06.
40. Dugoff L, Hobbins JC, Malone FD, Porter TF, Luthy D, Comstock CH et al. First-trimester maternal serum PAPP-A and free-beta subunit human chorionic gonadotropin concentrations and nuchal translucency are associated with obstetric complications: a population-based screening study (FASTER trial). *Am J. Obstet. Gynecol.*, 2004; 191: 1446-51.
41. Smith GC, Shah I, Crossley JA, Aitken DA, Pell JP, Nelson SM et al. Pregnancy-associated plasma protein A and alpha-fetoprotein and

- prediction of adverse perinatal outcome. *Obstet. Gynecol.*, 2006; 107:161-6.
42. Gagnon A, Wilson RD, Audibert F, Allen VM, Blight C, Brock JA, Désilets VA, Johnson JA, Langlois , Summers A, Wyatt P; Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada Genetics Committee. Obstetrical complications associated with abnormal maternal serum markers analytes. Review. *J. Obstet.Gynecol an.*, 2008; 30 (10): 91-49.
 43. Wald NJ, Watt HC, Hackshaw AK. Integrated screening for Down's syndrome on the basis of tests performed during the first and second trimesters. *N. Engl. J. Med.*, 1999; 341: 461-7.
 44. www.lmsalpha.com.
 45. Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, Rudnicka A. SURUSS in perspective. *BJOG*, 2004; 111: 521-31.
 46. Bishop AJ, Marteau TM, Armstrong D, Chitty LS, Longworth L, Buxton MJ et al. Women and health care professionals' preferences for Down's syndrome screening tests: a conjoint analysis study. *BJOG*, 2004; 111: 775-9.
 47. Copel JA, Bahado-Singh RO. Prenatal screening for Down's syndrome: a search for the family's values. *N. Engl. J. Med.*, 1999; 341: 521-2.
 48. Spencer K. Screening for trisomy 21 in twin pregnancies in the first trimester using free beta-hCG and PAPP-A, combined with fetal nuchal translucency thickness. *Prenat. Diagn.*, 2000; 20: 91-5.
 49. Sebire NJ, Snijders RJM, Hughes K, Sepulveda W, Nicolaides KH. Screening for trisomy 21 in twin pregnancies by maternal age and fetal nuchal translucency thickness at 10-14 weeks of gestational. *BJOG* 1996a; 103: 999-1003.
 50. Sebire NJ, Noble PL, Psarra A, Papapanagiotou G, Nicolaides KH. Fetal Karyotyping in twin pregnancies: selection of technique by measurement of fetal nuchal translucency. *BIOG* 1996b; 103: 887-90.
 51. Sebire NJ, D'Ercole C, Hughes K, Carvalho M, Nicolaides KH. Increased nuchal translucency thickness at 10-14 weeks of gestation

as a predictor of severe twin-to-twin transfusion syndrome. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, 1997; 10: 86-9.

52. Nicolaides KH, Azar G, Byrne D et al. Fetal Nuchal Translucency: ultrasound screening for chromosomal defects in first trimester of pregnancy. *BMJ* 1992; 304: 876-9.
53. Kagan KO, Wright D, Baker A et al. Screening for trisomy 21 by maternal age, fetal nuchal translucency thickness, free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008;31:618-24.
54. Tabor A, Philip J, Madsen M. Randomised controlled trial of genetic amniocentesis in 4606 low-risk women. *Lancet* 1986;1:1287-93.
55. Alfirevic Z, Sundberg K, Brigham S. Amniocentesis and chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* 2003, Issue 3.
56. Souka AP, von Kaisenberg CS, Hyett JA et al. Increased nuchal translucency with normal karyotype. *Am J Obstet Gynecol* 2005;192:1005-21.
57. Souka AP, Krampfl E, Bakalis S et al. Outcome of pregnancy in chromosomally normal fetuses with increased nuchal translucency in the first trimester. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001;18:9-17.
58. Michailidis GD, Economides DL,. Nuchal translucency measurement and pregnancy outcome in karyotypically normal fetuses. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001;17:102-5.
59. Bilardo CM, Muller MA, Paykrt E et al. Increased nuchal translucency and normal karyotype: time for parental reassurance. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2007;30:11-8.