

Screening per i difetti cromosomici del feto

M. Carta

Laboratorio di Chimica clinica ed Ematologia, Ospedale "San Bortolo", Vicenza

Riassunto

La sindrome di Down è una delle cause più comuni di deficit mentale congenito.

Inizialmente lo screening della sindrome di Down si è basato sull'età materna, ma negli ultimi 20 anni sono stati identificati numerosi marker biochimici ed ecografici per integrare il calcolo del rischio basato solo sull'età materna.

Diverse sono oggi le strategie di screening per la sindrome di Down da effettuarsi sia nel primo che nel secondo trimestre di gravidanza.

Summary

Screening for fetal chromosomal anomalies

Down's syndrome is one of the commonest causes of congenital mental handicap. The first indicator used to identify pregnancies at high risk was maternal age.

In the nearly two decades that have passed since, numerous variables have been identified that can be used to modify the maternal age-specific risk for Down's syndrome. These variables include maternal serum biochemical tests and ultrasound markers for a first or second trimester screening.

Key-words: Down's syndrome screening, PAPP-A, free-BHCG, NT.

Nel 1866 Langdon Down per primo descrisse la sindrome che porta il suo nome e nei primi anni del 1900 si osservò la correlazione esistente tra età materna e nascita di bambini affetti da sindrome di Down¹.

Il primo screening per i difetti cromosomici del feto si è quindi basato proprio sull'età materna ma si è dimostrato essere poco efficace con una scarsa sensibilità e specificità².

Nella metà degli anni '80 un'indagine retrospettiva sugli esiti delle gravidanze eseguite nell'ambito dello screening per la spina bifida, rileva come l'alfafetoproteina (AFP), una proteina prodotta dal feto, sia più bassa nei casi Down riflettendo un feto meno maturo dell'età gestazionale³. La ricerca si rivolge allora verso altri indicatori biochimici che possano essere predittivi di sindrome di Down: nel 1987 Bogart⁴ segnala come la gonodotropina corionica (hCG) sia mediamente più che doppia nelle gestanti con feti Down (il motivo non è ancora del tutto chiaro ma un'ipotesi attribuisce questo dato ad un ritardo nella maturazione dei villi nei feti Down) e nel 1988 Canick riscontra una riduzione

dell'estriolo nei feti Down (attribuita da molti all'imaturità di uno o più organi fetali deputati alla sua sintesi come fegato, surrene e placenta)⁵.

Basandosi allora su questi principali marcatori biochimici vengono proposti numerosi modelli matematici al fine di stimare nelle gravide il rischio di sindrome di Down. Tutti si basano sul presupposto che i livelli quantitativi di AFP, hCG ed estriolo (uE) non sono correlati tra loro e con l'età materna ed è quindi possibile nella valutazione del rischio tener conto del contributo di ogni singola variabile.

Il metodo più efficace è quello proposto da Wald nel 1988 e che diventerà poi il triplo test: il rischio specifico per ogni singola paziente viene determinato moltiplicando il rischio legato all'età per un rapporto di probabilità derivato dai valori dei Multipli di Mediana (MoM) di AFP, estriolo e hCG⁶. Questo rapporto di probabilità (LR) è il rapporto tra le altezze di distribuzione dei feti di controllo e di quelli affetti per ogni valore della variabile o del gruppo di variabili in esame. Per determinare il rischio di ogni singola ge-

stante il valore di LR trovato viene moltiplicato per il valore della prevalenza della DS corrispondente all'età della gestante in esame. Naturalmente esistono in commercio appositi programmi computerizzati in grado di calcolare l'indice di rischio combinato e che prevedono anche opportune correzioni per fattori che possono influenzare la concentrazione dei singoli analiti, (peso materno, razza, diabete, ecc.). Tali programmi permettono anche di rimuovere la piccola correlazione esistente fra i 3 marcatori.

Il triplo test prende così piede e raggiunge una *Detection Rate* (DR) del 60% circa, migliorata se l'epoca gestazionale viene stimata su base ecografica e non su calendario.

Negli anni '90 parallelamente alla ricerca di marcatori per migliorare lo screening del secondo trimestre, come l'inibina⁷, prende piede anche l'ipotesi di anticipare lo screening al primo trimestre di gravidanza con il vantaggio di poter offrire una diagnosi ed una eventuale soluzione in epoca più precoce di gravidanza con un innegabile beneficio psicologico per la paziente.

I marker già noti non si sono però dimostrati utili nelle fasi precoci di gravidanza. Diversi studi hanno dimostrato la scarsa efficacia della molecola di hCG nel primo trimestre di gravidanza, mentre i livelli di subunità beta libera (*freeβ*-hCG) risultano essere circa 2 volte la norma nei casi di sindrome di Down.

La proteina plasmatica A associata alla gravidanza (PAPP-A) risulta invece più bassa nella sindrome di Down. La combinazione di *freeβ*-hCG, PAPP-A ed età nel primo trimestre si associa ad una DR intorno al 60%^{8,9}.

Di pari passo con la ricerca in laboratorio, prosegue anche la ricerca di nuovi marcatori ecografici.

In particolare di rilevante importanza sembra essere la translucenza nucale, cioè la manifestazione ecografica dell'accumulo sottocutaneo di fluido dietro il collo fetale. I primi studi utilizzano un cut off fisso (generalmente 3 mm). Successivamente, dal momento che la misura della NT aumenta con l'aumentare dell'epoca gestazionale, viene proposto anche per questo marker di utilizzare un cut off variabile dipendente dall'epoca gestazionale, stabilendo un LR che possa essere usato per modificare il rischio specifico in base all'età materna. La *Medical Foundation* di Londra (FMF) emana delle linee guida per cercare di standardizzare tale misura e renderla il più riproducibile possibile, proponendo anche una serie di corsi di addestramento per operatori ecografici.

In uno studio multicentrico effettuato su 100.000 gravidanze seguendo le indicazioni della FMF, la translucenza nucale nel 72% dei casi di gravidanza Down, risulta essere superiore al 95° percentile¹⁰. Quindi lo screening eseguito sulla base di translucenza nucale ed età permette il riconoscimento di circa il 73% di gravidanze Down con un 5% di FP.

Inevitabile a questo punto pensare di migliorare la sensibilità del test aggiungendo alla NT anche parame-

tri biochimici. Nasce così il test combinato in cui la misura della translucenza nucale eseguita nel primo trimestre di gravidanza abbinata al dosaggio di *free-β*hCG e PAPP-A porta ad una DR vicina al 90%¹¹.

Attualmente sono disponibili molteplici strategie di screening che utilizzano marcatori biochimici del primo o del secondo trimestre combinati con markers ecografici e integrati fra loro.

I più utilizzati sono i seguenti:

1. Tritest: consiste nel dosaggio su siero materno a 15/16 settimane di gestazione di AFP, Estriolo (uE3) e hCG con corretta datazione ecografica.
2. Quadruplo test: come sopra ma con l'aggiunta del dosaggio dell'inibina.
3. Test combinato: dosaggio sierico di PAPP-A e *free-β*hCG con misura della NT in un periodo compreso tra 11 e 13 settimane di gestazione con operatori accreditati.
4. Test integrato: si effettua in due tempi misurando NT e dosaggio PAPP-A nel primo trimestre e nel secondo trimestre Tri-Test o Quadruplo test.

Due importanti studi multicentrici^{12,13} hanno valutato l'efficacia delle diverse strategie di screening in una numerosa popolazione di gravide. I risultati permettono di concludere (Tab. I) che, fissato al 5% il tasso di falsi positivi (FPR), il test integrato raggiunge una DR superiore al 90%. Tuttavia, anche tralasciando la valutazione economica, il test integrato sembra molto difficile da proporre non solo dal punto di vista organizzativo, ma anche da quello etico; infatti, dal momento che la stima del rischio viene eseguita solo sulla base tutti i parametri considerati, un'eventuale situazione di rischio elevato evidente già nel primo trimestre, magari tramite NT, non dovrebbe essere segnalata alla paziente. Inoltre con l'introduzione di un test integrato si vengono a perdere tutti i benefici legati alla diagnosi precoce.

Ciò che sembra comunque emergere da tutti questi studi è che lo screening per sola età dovrebbe essere accantonato e dovrebbe invece essere offerta a tutte le gravide la possibilità di ricorrere allo screening biochimico anche al di sopra dei 35 anni. Questo vale sia per il test combinato se si sceglie un approccio del primo trimestre, che per il quadruplo test se si preferisce uno

Tabella I. Confronto tra diverse strategie di screening negli studi SURUSS e FASTER: *Detection Rate con FPR* (test falsamente positivi) fissato al 5%.

	SURUSS	FASTER
Test combinato	83%	85%
Tritest	74%	70%
Quadruplo test	81%	81%
Test integrato	93%	96%

screening del secondo trimestre.

E' necessario tuttavia che il laboratorio che si occupa dei dosaggi biochimici sia in grado di garantire la qualità dei dosaggi: accanto all'accuratezza e alla ripetibilità del dato il laboratorio deve anche preoccuparsi di conoscere tutte le informazioni necessarie sui fattori che influenzano le concentrazioni dei marcatori biochimici nel siero, come la datazione della gravidanza che deve essere effettuata ecograficamente, il peso della gestante, l'attitudine al fumo, il gruppo etnico, il concepimento con tecniche FIVET o ICSI ecc¹⁴.

Le concentrazioni dei singoli analiti devono essere espresse in Multipli di Mediana facendo riferimento a mediane specifiche per epoca gestazionale ottenute su popolazione locale utilizzando la stessa strumentazione usata per lo screening¹⁵.

Altri problemi che possiamo incontrare riguardano il problema della dissociazione in vitro dovuta alla conservazione del campione e i problemi legati al trasporto del campione.

E' quindi necessario che il laboratorio assicuri un'adeguata conoscenza di tutte le variabili su indicate e che metta in pratica tutti gli accorgimenti necessari per azzerare o comunque minimizzare le principali fonti di variabilità analitica e biologica per poter ottenere un dato preciso, accurato e ripetibile da utilizzare per il calcolo del rischio.

Bibliografia

1. Shuttelworth GE. Mongolian imbecility. *BMJ* 1909; 2: 661-4.
2. Hook EB. Rates of chromosomal abnormalities at different maternal age. *Obstet Gynecol* 1981; 58:282-5.
3. Merkatz IR, Nitowsky HM, Macri JN, Johnson WE. An association between low maternal serum α -fetoprotein and fetal chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 148:886-94.
4. Bogart MH, Pandian MR, Jones OW. Abnormal maternal serum chorionic gonadotropin levels in pregnancies with fetal chromosome abnormalities. *Prenat Diagn* 1987; 7: 623-30.
5. Canick JA, Knight GJ, Palomaki GE, Haddow JE, Cuckle HS, Wald NJ. Low second trimester maternal serum unconjugated oestriol in pregnancies with Down's syndrome. *Br J Obstet Gynaecol* 1988; 95:330-3.
6. Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW, Nanchahal K, Royston P, Chard T, et al. Maternal serum screening in early pregnancy. *BMJ* 1988; 297:883-7.
7. Spencer K, Wallace EM, Rito S. Second trimester dimeric inhibin A in Down's syndrome screening. *Prenatal Diagnosis* 1996; 16:1101-10.
8. Nebiolo L, Ozturk M, Brambati B, Miller S, Wand J, Milunsky A. First trimester maternal serum alpha-fetoprotein and human chorionic gonadotropin screening for chromosome defects. *Prenat Diagn* 1990; 10:575-81.
9. Krantz DA, Larsen JW, Buchanan PD, Macri JN. First-trimester Syndrome screening: Free β -human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein A. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174:612-6.
10. 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.
11. 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.
12. 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). *Health Technol Assess* 2003; 7:1-88.
13. Malone FD, Canick JA, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, Bukowski R, et al. First trimester and second trimester or both for Down's syndrome. First and second trimester evaluation of risk (FASTER) research consortium. *N Engl J Med* 2005; 353:2001-11.
14. Dall'Amico D, Viora E. Lo screening prenatale per la sindrome di Down. *Ligand Assay* 2009; 14:102-10.
15. Canini S. Gli screening prenatali, marcatori biochimici, screening nel primo e secondo trimestre e test integrato. *Caleidoscopio*. Genova: Medical Systems; 2002.