

# Introduzione

---

Le linee guida, in generale, consistono in raccomandazioni per la pratica clinica ricavate dai dati scientifici prodotti dalla letteratura internazionale, secondo una prestabilita metodologia di ricerca evidence based. Le linee guida possono riguardare uno specifico aspetto di una situazione patologica o aspetti più generali, e rappresentano un punto di riferimento per gli operatori interessati, per tutti coloro che hanno a che fare professionalmente con una determinata condizione patologica e più in generale per tutti i cittadini. Nell'ampio panorama di offerte diagnostiche rivolte alle gestanti con o senza fattori di rischio, questa linea guida fornisce un orientamento su quali sono gli interventi per cui sono disponibili prove scientifiche di valutazione di efficacia, articolando sulla base di queste prove le raccomandazioni per la pratica clinica.

Ne risulta quindi che questo manuale di pratica clinica è stato sviluppato per fornire al clinico informazioni e raccomandazioni sul modo più corretto di attuare la diagnosi prenatale.

Sono state considerate valide le raccomandazioni che:

- esplicitano tutti i nodi decisionali importanti e i relativi esiti;
- identificano le migliori “evidenze esterne” riguardanti la diagnosi prenatale e ne valutano criticamente l’attendibilità;

Le raccomandazioni sono state definite rilevanti se:

- esistono ampie variazioni nella pratica clinica corrente;
- le linee guida contengono nuove evidenze suscettibili di avere un impatto sul trattamento;

- le linee guida riguardano il trattamento di un numero tale di persone che anche piccoli cambiamenti nella pratica potrebbero avere un forte impatto sugli esiti o sull'impiego delle risorse.

Il quadro etico di riferimento delle linee guida si basa su quattro principi fondamentali:

- principio di beneficenza;
- principio di non-maleficenza;
- principio di rispetto per l'autonomia;
- principio di giustizia;

Al momento non sono disponibili in Italia valutazioni affidabili e generali del rapporto costo-efficacia per molti dei principali trattamenti e procedure oggetto delle presenti linee guida.

### **Finalità e criteri**

Queste linee guida sono state sviluppate tramite approccio multidisciplinare, avendo come obiettivo di essere:

- applicabili alla realtà italiana;
- basate sull'evidenza quanto meno equivoca possibile;
- aperte alle acquisizioni più recenti;
- propositive e dinamiche.

Per ciascuna raccomandazione espressa in queste linee guida si è cercato il consenso formale su:

- validità;
- affidabilità;
- rilevanza clinica;
- applicabilità;
- comprensibilità;
- flessibilità;
- rispetto delle persone.

Queste linee guida intendono essere uno strumento di pratica applicabilità, quindi sono state considerate per ciascuna raccomandazione:

- flessibilità;
- chiarezza;
- minima intrusione nella pratica clinica.

La decisione consapevole di non attenersi alle raccomandazioni non può rappresentare causa specifica di responsabilità nei confronti dell'operatore. Tuttavia, nelle normali circostanze, attenersi alle raccomandazioni di una linea guida costituisce il metodo più efficiente di operare.

Si intende dare massima diffusione a queste linee guida tramite:

- presentazione ai professionisti del settore in un workshop dedicato;
- pieghevole di consultazione immediata contenente le raccomandazioni essenziali;
- volume completo contenente tutto il materiale sviluppato;
- documento informatico accessibile tramite consultazione in rete telematica ([www.agenas.it](http://www.agenas.it)).

Le raccomandazioni sono basate su revisioni sistematiche delle migliori evidenze disponibili. La forza delle raccomandazioni è classificata come A, B, C, o D (vedi tabella) ma la classificazione non riflette sempre l'importanza clinica delle raccomandazioni. Le migliori pratiche cliniche basate sull'esperienza clinica del gruppo di lavoro sono indicate come GPP.



# Metodologia

## **Elaborazione delle raccomandazioni**

Si è scelto di utilizzare per queste linee guida uno schema italiano sviluppato e presentato nel Manuale Metodologico del Programma Nazionale Linee Guida: “Come produrre, diffondere e aggiornare raccomandazioni per la pratica clinica” ([www.pnlg.it](http://www.pnlg.it)) sviluppato dall'Agenas in collaborazione con l'Istituto Superiore di Sanità.

Tale schema prevede un “grading” in base al quale la decisione di raccomandare o meno l'esecuzione di una determinata procedura può dipendere da diversi fattori tra cui la qualità delle prove scientifiche a favore, o contro, il peso assistenziale dello specifico problema, i costi, l'accettabilità e la praticabilità dell'intervento.

La classificazione di una raccomandazione secondo la gradazione A, B, C, D, E non rispecchia solo la qualità metodologica delle prove disponibili. Ci possono essere casi, infatti, in cui anche in presenza di una prova di efficacia di tipo I la raccomandazione sarà di tipo B, o anche C, qualora esista una reale incertezza sulla fattibilità e impatto della procedura.

Analogamente, in alcuni casi selezionati, può essere presente una raccomandazione di grado “A” pur in assenza di prove di tipo I o II, in particolare quando il contenuto della raccomandazione riguarda questioni non affrontate con disegni di studio randomizzati.

## Classificazione delle raccomandazioni

A	L'esecuzione di quella particolare procedura o test diagnostico è fortemente raccomandata. Indica una particolare raccomandazione sostenuta da prove scientifiche di buona qualità, anche se non necessariamente di tipo I o II.
B	Si nutrono dei dubbi sul fatto che quella particolare procedura o intervento debba sempre essere raccomandata, ma si ritiene che la sua esecuzione debba essere attentamente considerata.
C	Esiste una sostanziale incertezza a favore o contro la raccomandazione di eseguire la procedura o l'intervento.
D	L'esecuzione della procedura non è raccomandata.
E	Si sconsiglia fortemente l'esecuzione della procedura.

## Livello delle prove

I	Prove ottenute da più studi clinici randomizzati e controllati e/o da revisioni sistematiche di studi randomizzati.
II	Prove ottenute da un solo studio randomizzato di disegno adeguato.
III	Prove ottenute da studi di coorte non randomizzati con controlli concorrenti o storici o loro metanalisi.
IV	Prove ottenute da studi retrospettivi tipo caso-controllo o loro metanalisi.
V	Prove ottenute da studi di casistica ("serie di casi") senza gruppo di controllo.
VI	Prove basate sull'opinione di esperti autorevoli o di comitati di esperti, come indicato in linee guida o consensus conference, o basate su opinioni dei membri del gruppo di lavoro responsabile di queste linee guida.

Questo schema differenzia chiaramente il livello di prova dalla forza delle raccomandazioni cercando di utilizzare le due dimensioni in modo relativamente indipendente pur nell'ambito della massima trasparenza.

### **Realizzazione del processo di consenso**

Nell'elaborazione del presente documento è stata seguita la seguente metodologia:

- Formulazione, da parte del gruppo di esperti, dei quesiti scientifici più rilevanti, con particolare attenzione alle aree di maggiore incertezza clinica;
- Ricerca della letteratura scientifica attraverso strategie specifiche in grado di identificare tutte le evidenze scientifiche pubblicate relativamente ai quesiti identificati;
- Sintesi delle prove scientifiche disponibili in letteratura.

I quesiti clinici formulati dal gruppo di esperti sono stati rimodulati secondo il modello PICO (Patient, Intervention, Comparison and Outcome) che permette di dividere il quesito clinico in 4 componenti e facilitare la ricerca della letteratura e l'identificazione delle evidenze rilevanti.

La revisione della letteratura scientifica è stata effettuata seguendo i seguenti passi:

1. Individuare, attraverso una ricerca sulle principali banche dati elettroniche e su siti di agenzie sanitarie, nazionali e governative e delle principali società scientifiche le linee guida esistenti sull'argomento;
2. Identificare revisioni sistematiche di studi sperimentali (RS) sulla valutazione di efficacia dei trattamenti relativamente ai quesiti clinici identificati dal gruppo di esperti.

3. Identificare gli studi primari sperimentali: studi randomizzati controllati (RCT) e studi controllati (CCT). Per tutti i quesiti clinici identificati dal gruppo di esperti la ricerca è stata limitata agli studi pubblicati dopo la più recente linea guida identificata e ritenuta valida. Per i quesiti clinici non considerati nei documenti di sintesi alla ricerca bibliografica non sono stati applicati limiti temporali;
4. Identificare gli studi primari di altro tipo: di coorte o prospettici, studi retrospettivi su registri, studi caso-controllo, studi trasversali, serie consecutive di casi, per i quesiti clinici per i quali non sono stati identificati studi sperimentali;
5. Ricerca di protocolli, raccomandazioni, revisioni narrative, documenti su percorsi diagnostico-terapeutici prodotti da agenzie sanitarie, società scientifiche e organizzazioni nazionali coinvolte nella diagnosi prenatale.

La ricerca bibliografica è stata condotta fino al 2011 considerando esclusivamente pubblicazioni in lingua inglese e italiana.

### **Fonti consultate:**

Per la stesura delle presenti Linee Guida, sono state consultate le pubblicazioni attinenti edite in campo internazionale e nazionale.

Per le pubblicazioni internazionali, sono state consultate anche dati bibliografiche come MEDLINE ([www.nih.nlm.gov](http://www.nih.nlm.gov)) e Cochrane Library ([www.update-software.com/cochrane](http://www.update-software.com/cochrane)), EMBASE ove attinente. È stata inoltre eseguita, sempre su Internet, una ricerca accurata per verificare l'esistenza di analoghe Linee Guida edite da organismi nazionali e/o internazionali.



Allo scopo, sono stati verificati, tra gli altri, i siti Web di:

- National Guideline ClearingHouse  
([www.guideline.gov](http://www.guideline.gov));
- International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology  
([www.isuog.org](http://www.isuog.org));
- American College of Obstetricians and Gynecologists  
([www.acog.org](http://www.acog.org));
- Royal College of Obstetricians and Gynecologists  
([www.rcog.org.uk](http://www.rcog.org.uk));
- Canadian Society of Obstetricians and Gynecologists  
([www.sogc.medical.org/SOGnet/index\\_e.shtml](http://www.sogc.medical.org/SOGnet/index_e.shtml));
- European Association of Perinatal Medicine  
([www.eapm.it](http://www.eapm.it)).

### **Stesura linee guida**

Il panel di esperti, in riunione plenaria o attraverso comunicazione elettronica ha esaminato e discusso le prove scientifiche disponibili e le raccomandazioni proposte dal gruppo di lavoro incaricato di sintetizzare i risultati della revisione sistematica, arrivando a formulare le raccomandazioni nella loro versione definitiva.

Il documento redatto dal gruppo di lavoro è stato inviato a esperti esterni con il mandato esplicito di valutare la leggibilità e la chiarezza del documento, nonché la rilevanza clinica e l'applicabilità delle raccomandazioni.



# Gruppo di lavoro

---

Bruno Rusticali	Coordinatore Linee Guida Agenas
Claudio Giorlandino	Coordinatore scientifico - S. I. Di.P
Pietro Bagolan	Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma
Stefania Speca	Policlinico universitario Agostino Gemelli, Roma
Francesca Toppetti	Avvocato, Roma
Claudio Coco	SICEF, Società italiana cardiologia ed ecografia fetale
Giuseppe Simoni	Genetica medica, Università di Milano TOMA Advanced Biomedical Assays
Paolo Scollo	SIGO Società italiana di ginecologia e ostetricia
Giuseppe Lazzarino	Dipartimento scienze chimiche, laboratorio di biochimica Università di Catania

Redazione e revisione testo a cura di:

Pietro Cignini	S. I. Di.P
Federica Petetti	Agenas

Hanno inoltre collaborato:

Laura D'Emidio	S. I. Di.P
Mario Pavoni	S. I. Di.P
Rinaldo Zanini	Dipartimento materno infantile, Azienda ospedaliera "Ospedale provinciale di Lecco"

### **Valutazione esterna del documento.**

Per la valutazione esterna delle linee guida sono stati scelti due referee esterni al gruppo di lavoro:

Giuseppe Canzone	AOGOI, Associazione Ostetrici Ginecologi Ospedalieri Italiani
Herbert Valensise	SIGO, Società italiana di gine- cologia e ostetricia

Il loro compito è stato quello di fornire una parere sul documento elaborato prendendo in considerazione specifiche dimensioni:

- validità scientifica e appropriatezza metodologica;
- rilevanza, impatto clinico-organizzativo e trasferibilità delle raccomandazioni scientifiche;
- valutazione della congruità delle informazioni contenute

Grafica:

Dario Fella	Agenas
-------------	--------

Collaborazione amministrativa:

Amaranto Lucarelli	Agenas
--------------------	--------

# LA DIAGNOSI PRENATALE IN ITALIA



La diagnostica prenatale (un complesso di indagini strumentali e di laboratorio finalizzate alla valutazione e al monitoraggio dello stato di salute embrio-fetale durante tutto l'arco della gravidanza), permette l'individuazione precoce di patologie cromosomiche, infettive, ematologiche, morfologiche e fisiopatologiche (alcune delle quali possono essere curate finanche prima della nascita), e l'individuazione di eventuali fattori di rischio per la madre e per il feto favorendo così il management ostetrico ed il percorso anche organizzativo di gestione della gravidanza e del parto più funzionali alla specifica condizione clinica.

Inoltre la preparazione psicologica dei genitori alla nascita di un bambino con problemi già accettati e discussi può essere migliore se acquisita gradualmente durante la gravidanza.

La diagnostica prenatale (ecografia, villocentesi, amniocentesi, esami biochimici) inoltre, rappresenta un tema di grande impatto sui cittadini, individualmente e nella società, riguardando il benessere materno-fetale, gli esiti della gravidanza, le problematiche genetiche, le eventuali malformazioni e la loro gestione dal punto di vista diagnostico e preventivo e, eventualmente, il ricorso all'interruzione terapeutica della gravidanza o la gestione dell'handicap.

Lo sviluppo della diagnosi prenatale ha significativamente modificato il comportamento di molte coppie a rischio di procreare figli con malattie genetiche e/o malformazioni consentendo loro di ottenere informazioni, spesso estremamente accurate, sulla presenza o assenza di una determinata patologia e di praticare la scelta che ritenevano migliore per sé. Nella maggior parte dei casi la scelta consiste nel valutare se proseguire la gravidanza, preparandosi ad accogliere un bambino affetto, oppure interromperla volontariamente.

I metodi di diagnosi pre-natale distinti in invasivi (ad es. villocentesi, amniocentesi, cordocentesi) e non invasivi (ad es. ecografia fetale, indagini biochimiche e molecolari sul sangue materno) prevedono o meno il prelievo di tessuti embriofetali o annessiali. Per metodi non invasivi si fa riferimento agli screening finalizzati all'individuazione delle patologie cromosomiche fetali. In accordo con la letteratura scientifica, gli screening sono intesi come tentativi sistematici di identificare, in una popolazione sana e apparentemente priva di rischi specifici, le persone che hanno un rischio sufficientemente elevato da rendere indicati interventi ulteriori, che di per sé sarebbero troppo rischiosi o costosi in assenza di questa pre-selezione (Green et al. 2004).

Le tecniche invasive sono invece utilizzate per la diagnosi delle patologie cromosomiche fetali.

Queste Linee guida sono un tentativo di stabilire un equilibrio tra le procedure di diagnosi prenatale, il rischio della procedura stessa e costo del servizio.

Si tratta, infatti, di uno strumento dedicato sia a medici e personale sanitario che alle donne, che spesso hanno bisogno di fare chiarezza sui trattamenti e gli esami diagnostici da effettuare o non effettuare durante la gravidanza.

Le Linee Guida valutano quindi l'accuratezza e l'efficacia degli screening per la valutazione della salute materna e fetale, (malformazioni fetali, malattie infettive, problemi ematologici, diabete, depressione, nascita pretermine, ecc.) e l'appropriatezza di interventi per la valutazione dell'accrescimento del benessere fetale e per l'assistenza di particolari condizioni cliniche.

Lo screening è un programma di valutazione sistematico condotto con mezzi clinici, strumentali e biochimici che viene offerto gratuitamente alla popolazione generale presumibilmente sana volto ad individuare patologie in fase preclinica, attraverso l'identificazione di precursori, indicatori di malattia o di rischio.

Nei programmi di screening la popolazione viene invitata attivamente a sottoporsi al test.

In queste linee guida utilizziamo il termine *screening* per indicare procedure diagnostiche volte ad evidenziare alterazioni materne o fetali in donne o feti che presentano o meno fattori di rischio.

## **Le malformazioni congenite in italia**

Le malformazioni congenite hanno un'incidenza del 2-3% nella popolazione generale e nell' 80-90% dei casi si verificano in coppie con un non identificabile rischio specifico; di queste il 25-

30% esita in morte perinatale e, nei paesi industrializzati, sono responsabili del 25% di tutte le morti perinatali.

In Italia nascono ogni anno circa 5000 bambini con malformazioni congenite cardiache. Attraverso la diagnosi prenatale è possibile individuare difetti congeniti del cuore ciò rende teoricamente possibile la cura in utero di patologie quali lo scompenso cardiaco del feto o di aritmie fetali non gravi. Inoltre in caso di malformazioni del cuore la diagnosi prenatale consente il trasporto ancora in utero del feto presso strutture ove il bambino possa essere assistito subito dopo la nascita. Le malformazioni cardiologiche più comuni nel feto sono la trasposizione delle grandi arterie (origine dell'aorta dal ventricolo destro e dell'arteria polmonare dal ventricolo sinistro), la tetralogia di Fallot, caratterizzata da difetto del setto interventricolare e stenosi della valvola polmonare; la stenosi aortica critica, la coartazione aortica caratterizzata da un'ostruzione all'efflusso del ventricolo sinistro con conseguente scompenso cardiaco.

La diagnosi prenatale consente inoltre di osservare e seguire prima della nascita molti difetti congeniti dei reni e delle vie urinarie, permettendo di intervenire subito dopo la nascita prima che tali malformazioni producano danni irreversibili. Si stima che un giovane su due che giunge alla insufficienza renale terminale e alla dialisi (in attesa di un trapianto) sia affetto da malattie congenite dei reni e delle vie urinarie che sono insorte nei primi anni di vita. Le malformazioni delle vie urinarie rappresentano circa il 25% di tutte le malformazioni congenite e il 50% di quelle che possono essere riconosciute con l'ecografia dal quinto mese di gravidanza. È il caso del difetto responsabile del reflusso di urina nel rene (colpisce un bambino ogni 1.500), e della idronefrosi, che impedisce al rene di vuotarsi (un bambino su 3.000). Altre malformazioni riguardano lo sviluppo della vescica (che può essere ricostruita con successo entro le prime 24 ore dalla nascita) e l'ambiguità dei genitali, che può essere chiarita



con analisi cromosomica ed esame degli ormoni. Non possono invece per ora essere individuate con l'ecografia malformazioni meno gravi e più comuni, quale la ritenzione di uno o dei due testicoli (un neonato maschio su 50) o l'ipospadia (un neonato maschio su 700).

## La diagnosi prenatale in Italia

Lo sviluppo delle diagnosi prenatali ha condotto anche nei Paesi industrializzati a un abuso del ricorso a tali indagini, in assenza di rischi concreti.

In Italia la diagnostica prenatale rappresenta un ambito in cui è frequente e diffuso l'eccessivo ricorso a queste indagini diagnostiche, l'inappropriatezza delle indicazioni con conseguente aumento dei costi sanitari

L'ultimo rapporto Cedap che si riferisce al 2009, riferisce che, per il 73,2% delle gravidanze, si registra un numero di ecografie superiore a 3, valore raccomandato dai protocolli di assistenza alla gravidanza del Ministero della Salute.

I dati rilevati riflettono il fenomeno, già analizzato altrove, dell'eccessiva medicalizzazione e di un sovrautilizzo delle prestazioni diagnostiche in gravidanza.

Il numero di ecografie effettuate non sembra avere alcuna correlazione con il decorso della gravidanza.

Nell'ambito delle tecniche diagnostiche prenatali invasive, l'amniocentesi è quella più usata, seguita dall'esame dei villi coriali (nel 3,8% delle gravidanze) e dalla funicolocentesi (nello 0,8%). In media ogni 100 parti sono state effettuate 14,2 amniocentesi.

L'utilizzo di tale indagine prenatale è diversificato a livello regionale, nelle regioni meridionali si registra una percentuale al di sotto del 12% (ad eccezione della Sardegna) mentre i valori più alti si hanno in Valle d'Aosta (28,4%) e Umbria (26,9%).

A livello nazionale alle madri con più di 40 anni il prelievo del liquido amniotico è stato effettuato nel 40,69% dei parti.

Un ricorso eccessivo a questo tipo di esami anche quando non invasivi, come ad esempio le ecografie non significa necessariamente una gravidanza migliore e più sicura: spesso invece è il sintomo dell'ansia di chi percepisce i nove mesi di attesa come un percorso oscuro e pericoloso, per sé e per il figlio e di un atteggiamento difensivo del medico che assiste la donna in gravidanza.

Per alcuni esperti, sul ricorso a esami invasivi pesano la pressione dei mezzi di comunicazione e gli aspetti economici: le coppie realmente a rischio per l'avanzata età procreativa o per precedenti nella storia genetica della famiglia sono il 10% di quelle fertili, mentre la copertura attuale con esami prenatali è superiore al 15%. Un problema molto sentito dal punto di vista etico è quello legato all'interruzione di gravidanza conseguente all'esito di una diagnosi prenatale. In un Paese come l'Italia ogni anno circa 500.000 donne in stato di gravidanza si sottopongono a diagnosi prenatale: di queste l'80-90% effettuano l'esame ecografico; 40.000 sono le analisi cromosomiche attraverso l'amniocentesi e il prelievo dei villi coriali; 150-200 mila le indagini molecolari per malattie come la talassemia e la fibrosi cistica. La diagnosi risulta positiva in circa il 2% delle indagini cromosomiche e nel 25% di quelle molecolari.

# ECOGRAFIA OSTETRICA **2** IN GRAVIDANZA

## Screening delle anomalie strutturali fetali (ecografie del I trimestre)

### Introduzione

Per I trimestre si intende il periodo di età gestazionale fino a 13 settimane e 6 giorni<sup>1</sup>.

I recenti progressi tecnologici nel campo dell'ecografia hanno consentito studi approfonditi sullo sviluppo delle strutture embrionali e fetali\*. L'ecografia è attualmente il metodo più preciso e affidabile per la valutazione delle possibili complicanze della gravidanza nel primo trimestre<sup>2-3</sup>.

Il preciso ruolo dell'ecografia nel I trimestre è tuttavia ancora in evoluzione, principalmente a causa dello sviluppo tecnologico delle nuove apparecchiature che sono in grado di visualizzare sempre meglio e più precocemente le strutture embrinarie<sup>2</sup>.

---

\*Si definisce "embrione" il prodotto del concepimento fino a 10 settimane compiute (pari a 10 settimane e 0 giorni di età gestazionale), si definisce "feto" da 10 settimane e 1 giorno in poi.

## Requisiti dell'operatore medio.

La corretta interpretazione delle immagini ecografiche richiede una buona conoscenza delle fasi dello sviluppo embrionale e dei limiti della tecnica ultrasonografica.

## Requisiti minimi dell'apparecchiatura

Secondo quanto riportato dal National Screening Committee<sup>4</sup>, organo governativo inglese, l'operatore deve essere messo nelle condizioni per potere assolvere al meglio la sua opera, deve potere cioè disporre di attrezzature (ecografo nella fattispecie) di standard appropriato.

L'esame può essere effettuato per via trans addominale o trans vaginale con ecografo in tempo reale dotato di sonda addominale di almeno 3,5 MHz e/o di sonda vaginale di almeno 5 MHz. È consigliato l'esame per via trans vaginale nelle situazioni in cui l'esame eseguito per via trans addominale non dia sufficienti informazioni e viceversa.

## Popolazione target

**IA** L'ecografia del primo trimestre dovrebbe essere offerta come esame di routine a tutte le donne in gravidanza<sup>1-3</sup>.

## Obiettivi principali dell'ecografia del I trimestre:

*Valutazione della sede d'impianto*

**Gravidanza eutopica:** camera gestazionale all'interno dell'utero (vedi oltre "segni ecografici della gravidanza con sede intrauterina").

**Gravidanza extra-uterina:** camera gestazionale fuori dall'utero.

*Diagnosi di gravidanza extra-uterina:*

Si ottiene migliore sensibilità e specificità nella diagnosi se si utilizzano in modo integrato i dati ecografici e quelli biochimici (*dosaggio su sangue materno della beta-HCG*).

I segni ecografici di gravidanza extra uterina si dividono in<sup>5-8</sup>:

- Segni diretti: visualizzazione di camera e/o embrione in sede extra-uterina
- Segni indiretti:
  - Assenza di camera gestazionale in utero.
  - Cisti annessiale semplice.
  - Massa annessiale di tipo complex.
  - Visualizzazione di ring iperecogeno.
  - Versamento nel Douglas.

Con un valore di beta-HCG  $\geq 1000$  UI/ml dovrebbe essere visualizzata la camera gestazionale in utero con approccio trans vaginale.

In caso contrario può essere posto il sospetto di gravidanza ectopica<sup>9-14</sup>.

IIIA

## Diagnosi di vitalità o di aborto

Può essere formulata diagnosi di **aborto interno** se<sup>15-20</sup>:

- Con CLR  $\geq 5$  mm non viene visualizzata attività cardiaca (approccio trans vaginale);
- Con CLR  $\geq 10$  mm non viene visualizzata attività cardiaca (approccio trans addominale);

Si può parlare di “blighted ovum” se:

- Con camera gestazionale di diametro  $\geq 20$  mm non viene visualizzato l’embrione (*approccio trans vaginale*);
- Con camera gestazionale di diametro  $\geq 25$  mm non viene visualizzato l’embrione (*approccio trans addominale*);

IIIA

**IIIA** Se questi criteri non vengono soddisfatti, per valutare l'evoluzione della gravidanza, l'esame ecografico va ripetuto a distanza di almeno gg.7<sup>21</sup>.

La tabella 1 mostra alcuni importanti segni ecografici della gravidanza iniziale con sede intrauterina

### **Tabella1 – Segni ecografici della gravidanza con sede intrauterina<sup>2</sup>**

*Approccio trans vaginale\**

Età gestazionale	C R L (mm)	Segni
3 - 4 Settimane	--	Inspessimento della rima endometriale
4 - 5 Settimane	--	Visualizzazione camera gestazionale
5 Settimane	1 -2	Visualizzazione del sacco vitellino e del polo embrionario
5 - 6 Settimane	5	Attività cardiaca embrionaria

\* *Se l'approccio è trans addominale questi segni ecografici vengono generalmente visualizzati una settimana dopo.*

Gli ultrasuoni sono una forma di energia e pertanto possono determinare effetti biologici noti, come l'aumento di temperatura e la cavitazione, soprattutto quando colpiscono una piccola area tissutale<sup>22-28</sup>.

È sconsigliato l'utilizzo del Color-Doppler e del Doppler pulsato per la rilevazione dell'attività cardiaca embrionale (fino a 10 settimane e 0 giorni).

## Numero di embrioni/feti e corionicità.

La diagnosi di gemellarità deve essere eseguita durante l'esame ecografico del primo trimestre.

Le gravidanze multiple dovrebbero essere diagnosticate solo quando viene identificato più di un embrione o feto in quanto la presenza di più di una sacca liquida senza echi interni può giustificare il sospetto ma non è segno certo di gemellarità data la non specificità del reperto. (Per esempio: una gravidanza singola in utero setto o bicorne con raccolta liquida nell'emiutero o nel corno non gravido può simulare una gravidanza gemellare, oppure una emorragia subcoriale può essere interpretata come un secondo sacco gestazionale).

In caso di gravidanze plurime è necessario valutare la corionicità/amnionicità<sup>29-35</sup>.

IIIA

L'esame ultrasonografico eseguito nel I trimestre ha un vantaggio maggiore rispetto a quello del II trimestre perché presenta un'accuratezza più elevata nel determinare la corionicità<sup>29</sup>, ed ha un valore predittivo positivo del 97 %<sup>32</sup>.

Questo riveste un ruolo importante nel counselling di donne che necessitano di una diagnosi prenatale e permette di selezionare un sottogruppo di gravidanza gemellari ad alto rischio per TTTS (sindrome da trasfusione feto-fetale), anomalie congenite, ritardo di crescita intrauterino e mortalità perinatale<sup>33-34</sup>.

Il marker ecografico più utile per determinare la corionicità, descritto per la prima volta da Finberg<sup>35</sup>, è l'aspetto della membrana alla sua inserzione sulla placca corionica o sulla superficie fetale della placenta.

Un solco di notevole spessore tra le membrane all'inserzione sulla placenta prende il nome di "segno lambda" o "segno del doppio

picco" ed ha elevate probabilità di indicare una placentazione dicoriale-diamniotica con fusione.

Se l'inserzione si connette in modo evidente alla lamina corionica della placenta sottoforma di una membrana sottile e separata dalle strutture circostanti è denominata "segno della T" ed ha una elevata probabilità di indicare una placentazione monocoriale-diamniotica.

### **Datazione e stima dell'età gestazionale<sup>39-54</sup>**

A tutte le donne in gravidanza, dovrebbe essere offerta un'ecografia precoce per determinare l'età gestazionale allo scopo di ridurre l'alta percentuale di parti pre-termine e post-termine<sup>36-37</sup> e con induzioni intempestive del travaglio e meglio individuare la giusta tempistica dello screening per la sindrome di Down.

La localizzazione del sacco gestazionale, e la presenza o l'assenza di un embrione e/o del sacco vitellino, deve essere documentata.

Il modo più accurato per stabilire una giusta datazione dell'epoca gestazionale, è la misurazione della lunghezza cranio-caudale (CRL), preferibilmente tra le 10 e le 13 settimane.

Il CRL va misurato con l'embrione/feto in posizione neutra (**né iperesteso né iperflesso**) in scansione sagittale ed escludendo il sacco vitellino.

Per effettuare una corretta datazione in un gravida sopra le 14 settimane bisogna utilizzare la misura del DBP o della circonferenza cranica.

Se la misura del CRL è circa 84 mm una datazione corretta si esegue misurando la circonferenza cranica.

Va effettuata la ridatazione ecografica solo se la differenza tra età gestazionale anamnestica e quella ecografica è  $\geq$  di 7 giorni<sup>55</sup>.



Se il polo embrionario non è visibile, deve essere misurato il sacco gestazionale, considerando la media dei tre diametri (longitudinale, trasversale, antero-posteriore) misurati in due scansioni dell'utero (longitudinale e trasversale).

### **Anatomia embrionale/fetale e valore diagnostico per anomalie.**

È importante conoscere le modificazioni anatomiche embrionali/fetali in queste settimane per evitare di fare diagnosi di anomalie fetali falsamente positive (per esempio, la diagnosi di idrocefalo non può essere stabilita perché a quest'epoca i ventricoli cerebrali sono fisiologicamente dilatati, così come non si può porre diagnosi di onfalocoele, perché a quest'epoca l'erniazione delle anse intestinali a livello dell'inserzione del cordone ombelicale è fisiologica).

Le seguenti strutture embrionali/fetali possono essere visualizzate in relazione all'età gestazionale come sintetizzato:

- **9 settimane:** testa, tronco, arti
- **10 settimane:** nuclei di ossificazione delle ossa lunghe, della mascella e del cranio.
- **11 settimane:** stomaco, colonna vertebrale, cranio, 4 camere cardiache.
- **12 settimane:** l'erniazione fisiologica delle anse intestinali non deve più essere presente, reni e vescica.

A causa delle piccole dimensioni del feto a quest'epoca gestazionale, è necessario utilizzare ecografi ad alta risoluzione ed una buona esperienza da parte dell'operatore (**è richiesta una curva di apprendimento di circa 3-4 anni**)<sup>60</sup>.

Comunque, allo stato attuale, l'uso degli ultrasuoni nel I trimestre come esame di screening per le maggiori anomalie strutturali del feto, non è raccomandato se non per centri altamente specializzati<sup>56-61</sup>.

IVA

L'esame ecografico per la misura della translucenza nucale va effettuato solo a pazienti che lo richiedono e solo da operatori accreditati da società scientifiche nazionali e internazionali<sup>62-84</sup>.

A tal proposito, si rimanda al capitolo dello screening prenatale.

### **Valutare le cause di eventuale sanguinamento vaginale e/o dolore pelvico.**

Il sanguinamento vaginale è la più comune causa di accesso in pronto soccorso nel primo trimestre di gravidanza.

IIIA

L'ecografia è necessaria per determinare le cause del sanguinamento, che possono essere diverse<sup>85</sup>:

- Minaccia d'aborto.
- Aborto spontaneo.
- Gravidanza ectopica.
- Patologia del trofoblasto.

### **Valutare la presenza di eventuali anomalie uterine e/o annessiali (III A)**

IIIA

L'utilizzo dell'ecografia è raccomandato come accurato strumento diagnostico, nel sospetto di gravidanze molarie e masse pelviche.

- **Gravidanza molare**

Quando sussiste il sospetto di una mola idatiforme basato sui sintomi e/o segni, l'ecografia è un accurato strumento per porre il sospetto diagnostico di tale patologia<sup>86-88</sup>.

Una diagnosi precoce diminuisce il rischio di significative complicanze, in particolare, quelle correlate con la funzionalità respiratoria<sup>89</sup>.

- **Masse pelviche**

Se viene riscontrata una massa pelvica nel corso del primo trimestre, l'ecografia è utile per identificarne la localizzazione e le caratteristiche di eventuale sospetta benignità o malignità<sup>90-91</sup>. L'utilizzo del color-Doppler può fornire un minimo contributo nella diagnosi<sup>41</sup>.

Il corpo luteo può essere visualizzato nella maggior parte delle ecografie del primo trimestre di gravidanza come formazione cistica a vascolarizzazione periferica di diametro di circa 3 cm.

Bisogna, inoltre, tenere presente che, nel I trimestre di gravidanza, le contrazioni locali del miometrio possono essere confuse con miomi intramurali durante l'esame ecografico.

## La refertazione<sup>93-96</sup>

Nel referto standard del primo trimestre, si descrive:

- L'indicazione all'esame;
- La localizzazione e il numero delle camere gestazionali visualizzate;
- Il diametro medio delle camere gestazionali (dato necessario solamente quando non sia ancora possibile visualizzare l'embrione);
- Numero e vitalità embrioni/feti visualizzati;
- Corionicità e amnioticità in caso di gravidanze gemelari;
- Misura del CRL o DBP e/o HC degli embrioni/feti visualizzati (i dati biometrici devono essere comparati con i dati di normalità segnalando se la datazione ecografica corrisponde all'epoca di amenorrea);
- la presenza di eventuali patologie uterine o annessiali materne associate alla gravidanza;
- consigli per controlli ecografici successivi;

- Il modello dell'apparecchio utilizzato, il tipo di sonda, la raccomandazione di portare la refertazione ai successivi controlli;
- Segnalare gli eventuali fattori che rendono difficoltosa l'esecuzione dell'esame (come l'obesità, la non accettazione della donna ad effettuare l'esame per via trans vaginale...);
- La data e la firma con il timbro dell'operatore.

# ECOGRAFIA OSTETRICA IN GRAVIDANZA

## Screening delle anomalie strutturali fetali (ecografie del II trimestre)

La presenza di malformazioni congenite maggiori è riportata in circa il 2% dei feti e neonati<sup>1</sup>.

Nelle ultime due decadi la diffusione dell'utilizzo dell'ecografia durante gravidanza ha permesso di identificare un numero sempre maggiore di malformazioni fetali in utero<sup>2,3</sup>.

Nell'ambito dell'ecografia ostetrica è soprattutto lo studio dell'anatomia fetale che richiede una formazione adeguata. Ovviamente i migliori risultati nel rilevare malformazioni saranno ottenuti dagli operatori più qualificati che, normalmente, operano nei centri specializzati di riferimento (II-III Livello).

Risulta chiaro come nella pratica clinica questo non possa essere applicabile, non disponendo solo di operatori più qualificati, ecco perché in ambito europeo è stato introdotto il concetto di **“screening ecografico delle anomalie fetali”**, riferendosi all'esame morfologico condotto da operatori di I livello (media esperienza) su popolazione non selezionata (gravidanza fisiologica).

### *Analisi della letteratura*

Sono stati analizzati diversi studi sulla sensibilità dell'ecografia morfologica del II trimestre nell'identificare la presenza di anomalie strutturali fetali. Molti di questi studi, retrospettivi o prospettici, sono su campioni numerici limitati e disomogenei perchè eseguiti sia da operatori medi che esperti<sup>4-9</sup>.

Una review sistematica<sup>10</sup> ha analizzato 11 lavori sul valore diagnostico dell'ecografia del II trimestre.

La sensibilità e la specificità nell'identificare anomalie strutturali fetale prima delle 24 settimane risultano rispettivamente 24.1% (range 13.5% - 85.7%) e 99.92% (range 99.40% - 100.00%). La meta-analisi dei likelihood ratios ha mostrato LR positivo e negativo prima di 24 settimane rispettivamente di 541.54 (95% CI 430.80 - 680.76) e 0.56 (95% CI 0.54. 0.58).

L'analisi delle detection rate per il tipo di malformazione (in accordo con la classificazione del RCOG according to the RCOG category<sup>11</sup>) ha mostrato una detection rate dell' 83% per le anomalie letali, del 50% per quelle con sopravvivenza possibile e morbilità a lungo termine, del 100% per quelle con possibile terapia intrauterina e del 16% per le anomalie con morbilità immediata o a breve termine.

IIA

L'ecografia del II trimestre sembra avere una alta specificità ma una bassa sensibilità nell'identificare anomalie strutturali fetali e deve per tale motivo essere considerato un esame di "screening" e non diagnostico.

### **Scopo di un programma di screening**

Lo scopo di un programma di screening delle anomalie strutturali fetali è quello di permettere il riconoscimento precoce, ove possibile, di malformazioni fetali in modo da:

- Informare i genitori sull'effettiva entità dell'anomalia e sulle diverse ipotesi di gestione della situazione;

- Offrire la possibilità dell'espletamento del parto in una struttura di livello adeguato alla gestione dell'anomalia diagnostica;
- Ridurre la mortalità e morbidità neonatale;
- Intraprendere, ove possibile, un trattamento intrauterino.

## Screening delle anomalie strutturali fetali: esame di routine o su popolazione selezionata?

### *Analisi della letteratura*

È stata identificata una review che ha esaminato l'efficacia dell'ecografia eseguita di routine su tutte le gestanti prima di 24 settimane di gestazione rispetto all'ecografia eseguita solo su popolazione selezionata<sup>12</sup>.

La review ha incluso 8 RCT e un quasi-randomised controlled trial, per un totale di 34.251 donne.

Lo screening morfologico di routine ha determinato un aumento del numero di interruzioni di gravidanza (quattro trials, OR 3.19, 95% CI 1.54 - 6.60), una riduzione nel numero di gravidanze gemellari non diagnosticate (a 20 settimane, un trial, OR 0.12, 95% CI 0.03 - 0.56; a 26 settimane, sei trials, OR 0.08 95% CI 0.04 - 0.16) e del numero di induzioni per gravidanza oltre il termine (sei trials, OR 0.61, 95% CI 0.52 - 0.72) rispetto allo screening su popolazione selezionata.

Lo screening ecografico delle anomalie strutturali fetali prima delle 24 settimane va offerto di routine a tutte le donne.

IA

## Screening delle anomalie strutturali fetali: quando deve essere eseguito?

### *Analisi della letteratura*

Lo screening delle anomalie strutturali fetali viene eseguito di routine tra la 19<sup>a</sup> e la 22<sup>a</sup> + 5 settimana di gestazione, periodo che rappresenta un "compromesso" tra la possibilità di riconoscere

una malformazione e la possibilità di interrompere la gravidanza entro i termini previsti dalla legge italiana.

Occorre ricordare che l'esame morfologico per essere un esame sufficientemente completo, deve essere eseguito in una epoca nella quale il feto "si studia meglio". Uno studio prospettico randomizzato del 1999, ha confrontato l'esito di ecografie morfologiche eseguite a 18, 20 e 22 settimane<sup>13</sup>.

Vi è stato un numero significativamente più alto di ecografie esaustive nel gruppo delle 20 (90%) e delle 22 (88%) settimane rispetto al gruppo delle 18 (76%;  $p < 0.001$ ). Nessuna differenza è stata riscontrata tra il gruppo delle 20 e delle 22 settimane.

L'incidenza di flussimetria uterina alterata e di placenta bassa è risultata più alta nel gruppo delle 18 settimane rispetto al gruppo delle 20 e delle 22 settimane ( $p < 0.001$ ). Nessuna differenza è stata riscontrata tra il gruppo delle 20 e delle 22 settimane.

Non sono state riscontrate differenze significative del numero di anomalie morfologiche riscontrate nei tre gruppi.

**IIA**

Lo screening ecografico delle anomalie morfologiche fetali dovrebbe essere eseguito tra la 20a e la 22a settimana di gestazione.

### **Quale operatore può eseguire lo screening delle anomalie strutturali fetali?**

È ormai assodato che l'attendibilità dell'esame ecografico è operatore-dipendente ed è strettamente vincolata al livello di formazione culturale e tecnica. Uno studio condotto dall'Organizzazione Mondiale della Sanità nel 1998 afferma: "A livello mondiale la maggior parte delle ecografie attualmente sono eseguite da personale con basso training di formazione o non certificato"<sup>14</sup>.



Lo screening delle anomalie fetali del II trimestre dovrebbe essere eseguito da un operatore “medio”, il quale deve essere definito tale sulla base dei seguenti requisiti:

- adeguata conoscenza dell'uso degli ultrasuoni e della loro sicurezza;
- precedente training in ecografia fetale;
- periodico aggiornamento sull'argomento.

IVD

### Quale apparecchiatura si deve utilizzare?

Per l'esecuzione dello screening delle malformazioni fetali del II trimestre l'ecografo deve essere dotato delle seguenti caratteristiche:

- sonda convex da 3-5 Mhz;
- immagini in real time e scala dei grigi;
- possibilità di “congelare” ed ingrandire/ridurre l'immagine;
- possibilità di memorizzare e/o stampare le immagini.

IVD

### Le scansioni “utili” per ottenere un buon screening

**Quali scansioni sono consigliate per un buon esame morfologico del capo?**

*Il diametro biparietale (DBP)*

Il diametro biparietale congiunge i punti del parietale più distante dal piano sagittale mediano.

Il DBP dovrebbe essere misurato nella scansione assiale transtalamica con angolazione del fascio di ultrasuoni il più possibile vicino ai 90° rispetto la linea mediana.

Le strutture mediane di riferimento intracraniche sono, in direzione antero-posteriore, la falce, il cavo del setto pellucido,

talami, i peduncoli cerebrali e quindi ancora la falce. Orbite e cervelletto non devono essere visualizzati.

La misurazione deve essere eseguita ponendo il caliper prossimale esternamente al tavolato cranico e il caliper distale internamente (misurazione esterna-interna) o comunque con la stessa metodologia utilizzata nelle chart di riferimento

### *La circonferenza cranica (CC)*

La misurazione della circonferenza cranica viene eseguita nella stessa scansione del diametro bibarietale.

Se l'ecografo utilizzato dispone della misurazione mediante ellisse, questa deve essere posta esternamente al tavolato cranico.

In caso contrario il calcolo della circonferenza cefalica viene eseguito mediante la formula  $HC = 1,62 \times (DBP + DFO)$ . In questo caso il DBP o meglio, il diametro trasversale, andrebbe misurato "esterno-esterno".

### *Cranio*

Nello studio del cranio devono essere valutati forma, dimensioni e integrità.

La scansione che permette lo studio di tutte queste caratteristiche è quella della misurazione della biometria cranica.

Forma: Il cranio presenta normalmente una forma ovoidale e regolare. Devono essere assenti protusioni e alterazioni della forma delle ossa del calvario.

Dimensioni: Le dimensioni devono essere valutate secondo i criteri sopradescritti.

**Integrità:** Le ossa del calvario devono essere integre ed interrotte esclusivamente a livello delle suture.

### *Il cervello*

Lo studio del cervello fetale deve permettere di identificare le seguenti strutture: cavo del setto pellucido, linea mediana, talami, ventricoli cerebrali con i plessi corioidei, cervelletto, cisterna magna.

A differenza della scansione utilizzata per lo studio biometrico della teca, per lo studio dell'encefalo, le scansioni vanno prese su più piani assiali (piano transtalamico, piano transventricolare, piano transcerebellare), che permettono di osservare le strutture sovramenzionate.

Le scansioni per un buon esame morfologico del capo dovrebbero includere:

- scansione assiale transtalamica (con valutazione della forma del cranio e visualizzazione della linea mediana, cavo del setto pellucido, talami, ventricoli laterali e plessi corioidei);
- scansione assiale transcerebellare (con visualizzazione del cervelletto);
- DBP, CC e DTC devono essere sempre valutati.

IVD

*Quali scansioni sono consigliate per un buon esame morfologico del volto?*

Nello studio del volto fetale deve essere accertata la presenza di entrambe le orbite, naso e labbra.

Qualora la posizione fetale e l'ecogenicità materna lo permettessero deve essere ottenuta una scansione del profilo fetale.

IVD

*Quali scansioni sono consigliate per un buon esame morfologico del torace?*

Nello studio del torace devono esserne valutati la forma e le dimensioni rispetto all'addome (rapporto Circonferenza toracica/Circonferenza addominale 0,8-1).

Le coste non devono presentare deformità.

Il rapporto cardio-toracico può essere valutato soggettivamente (area del cuore circa 1/3 di quella torace).

IVD

L'ecogenicità dei polmoni deve essere omogenea e devono essere esclusi "shift" mediastinici o masse evidenti.

*Quali scansioni sono consigliate per un buon esame morfologico dell'addome?*

La circonferza addominale deve essere misurata su una scansione trasversa dell'addome, il più possibile circolare. Lo stomaco e la porzione intraddominale della vena ombelicale fino alla sua emergenza sulla parete addominale devono essere visualizzati. I reni non devono essere inclusi nella scansione.

Se l'ecografo utilizzato dispone della misurazione mediante ellisse, questa deve essere posta esternamente al margine dell'addome.

In caso contrario devono essere misurati il diametro antero posteriore (APAD) e il diametro trasverso dell'addome (TAD) e la circonferenza addominale è calcolata mediante la seguente formula:  $\pi (APAD + TAD)/2 = 1.57(APAD + TAD)$ .

Il diametro antero posteriore addominale e il diametro addominale trasverso devono essere misurati ponendo i calipers esternamente al margine della parete addominale.

L'integrità della parte addominale deve essere accertata e devono essere escluse protusioni dell'intestino e dei visceri addominali attraverso difetti della parete addominale. Lo stomaco deve essere visualizzato nella parte sinistra dell'addome.

La colecisti può essere visualizzata nella parte destra dell'addome controlateralmente allo stomaco.

Evidenti masse, formazioni fluide o importanti dilatazioni intestinali dovrebbero essere escluse.

La regolare inserzione del cordone ombelicale sulla parete addominale deve essere visualizzata. Opzionale è la valutazione del numero dei vasi nel cordone.

Entrambi i reni e la vescica devono essere visualizzati.

In caso di dilatazione delle pelvi renali deve esserne valutato il diametro antero-posteriore.

La presenza di valori  $< 7$  mm devono essere considerati varianti della norma<sup>15</sup>.

Le scansioni per un buon esame morfologico dell'addome dovrebbero includere:

- scansione trasversa dell'addome (con visualizzazione dello stomaco, vena ombelicale, inserzione del cordone ombelicale, reni e vescica);
- La CA deve essere sempre misurata.

IVD

*Quali scansioni sono consigliate per un buon esame morfologico degli arti?*

La presenza di entrambe le braccia con le mani e di entrambe le gambe con i piedi deve essere documentata. Non è richiesta la valutazioni del numero delle dita delle mani e dei piedi.

IVD

La misurazione della lunghezza del femore e dell'omero deve essere sempre inclusa nello studio (l'angolo di insonazione del fascio di ultrasuoni rispetto all'osso dovrebbe essere compreso tra 45° e 90°).

### **Quali parametri devo valutare per lo studio dell'accrescimento fetale?**

L'epoca gestazionale effettiva (calcolata con ecografia del I trimestre o, se non disponibile, del II trimestre) deve sempre essere accertata e devono essere utilizzate curve biometriche dedicate e riferite alla popolazione in esame.

IVD

Il normale accrescimento fetale nell'ecografia del II trimestre deve essere valutato mediante la misurazione di DBP, CC, CA e LF e deve essere sempre riferito all'epoca gestazionale effettiva.

### **La valutazione del liquido amniotico**

La quantità di liquido amniotico può essere stimata soggettivamente o mediante valutazione ecografica (tasca massima, amniotic fluid index).

IIIC

Non vi sono differenze tra la misurazione soggettiva ed ecografica quando l'ecografia è eseguita da esaminatori esperti<sup>16,17</sup>.

### **Cosa si può evidenziare con lo screening delle anomalie strutturali fetali?**

#### *Analisi della letteratura*

In accordo con la classificazione delle malformazioni fetali della RCOG sono stati valutati, negli studi già presi in esame nelle sessioni precedenti<sup>4-11</sup> le varie tipologie di malformazioni che possono essere diagnosticate durante lo screening del II trimestre e la detection rate complessiva dell'ecografia stessa.

La detection rate dello screening delle malformazioni fetali varia a seconda degli organi interessati, con una sensibilità complessivamente più alta per le malformazioni maggiori del sistema nervoso centrale e più bassa per le malformazioni del sistema scheletrico e cardiaco.

In particolare le malformazioni con una detection rate più alta sono state: anencefalia (97%), encefalocele (90%), gastroschisi (94%), onfalocele (84%), displasia renale bilaterale (84%), agenesia renale bilaterale (90%).

Le malformazioni letali del sistema muscolo scheletrico sono state riconosciute globalmente nel 33%, la spina bifida nel 66%, malformazioni cardiache complesse nel 21% dei casi.

La detection rate dello screening delle malformazioni fetali nel II trimestre varia a seconda degli organi interessati, con una sensibilità complessivamente più alta per le malformazioni maggiori del sistema nervoso centrale e più bassa per le malformazioni del sistema scheletrico e cardiaco. **IIA**

## **Cosa si deve evidenziare con lo screening delle anomalie strutturali fetali?**

### *Analisi della letteratura*

La responsabilità dell'operatore e quello che "deve" evidenziare durante lo screening delle anomalie strutturali fetali sono strettamente collegati a quello che oggi, la maggior parte degli operatori medi, sono in grado di diagnosticare nella pratica quotidiana in Europa.

Come vedremo anche successivamente lo standard di riferimento sul quale si basano queste linee guida è, in definitiva, una valutazione derivante da una presa coscienza di quello che gli è richiesto e di quello che non deve sbagliare.

IIB

Lo standard di riferimento sul quale si deve basare l'operato dell'ecografista è una valutazione di quello che la maggior parte degli operatori medi, sono in grado di diagnosticare nella pratica quotidiana in Europa.

## Il cuore fetale

### *Analisi della letteratura*

Le anomalie cardiache rappresentano le malformazioni più spesso non diagnostiche durante lo screening morfologico fetale<sup>19</sup> e la loro detection rate dipende dal tipo di malformazione stessa e dall'associazione con altre anomalie fetali<sup>20</sup>, dal training dell'operatore, da fattori materni (obesità, scarsa ecogenicità) e fetali (oligoidramnios, posizione sfavorevole, gemellarità).

Circa il 75% delle cardiopatie congenite diagnosticate in utero deriva da popolazione senza alcun fattore di rischio per cui si rende necessario uno screening delle cardiopatie congenite su tale popolazione (definita a basso rischio).

Il primo studio in cui è stata valutato l'utilizzo della scansione 4 camere cardiache come test di screening per le cardiopatie congenite<sup>21</sup> ha mostrato una sensibilità diagnostica complessiva del 50% su una popolazione di circa 30.000 gravide.

Un studio pubblicato lo stesso anno, in cui si è confrontata la sensibilità diagnostica delle 4 camere e delle 4 camere + assi lunghi su più di 5.000 donne in gravidanza<sup>22</sup> ha riportato una sensibilità del 48% per la 4 camere e del 78% per la 4 camere + assi lunghi.

Due anni dopo, Kirk et al.<sup>23</sup> hanno confrontato l'accuratezza diagnostica di 4 camere vs 4 camere + 5 camere (radice aortica) su più di 6.000 gravidanze, ottenendo una sensibilità rispettivamente del 47% e del 78%.



Più recentemente altri gruppi hanno riportato sensibilità variabili dal 55%<sup>24</sup> al 75%<sup>25</sup> utilizzando, come test di screening, la valutazione delle 4 camere + efflussi.

La scansione delle 4 camere (nota come esame “basic”<sup>26</sup>) è sicuramente più semplice da ottenere. L’operatore che già esegue ecografie ostetriche più rapidamente prenderà confidenza con tale scansione poiché si ottiene a partire dalla scansione traversa dell’addome semplicemente spostando la sonda verso la testa del feto. Inoltre una scansione traversa del torace (al cui interno sono valutabili le quattro camere) rientra nello screening morfologico del II trimestre e dovrebbe essere ottenuta da tutti gli operatori.

La sua sensibilità diagnostica, come affermato precedentemente, si aggira intorno al 50%, essendo escluse le cardiopatie che non comportano alcuna modificazione della scansione 4 camere.

L’esame “extended” (scansione degli assi lunghi insieme alla scansione delle 4 camere) ha sicuramente una sensibilità diagnostica maggiore (circa il 75%) ma presenta delle limitazioni da ricercare soprattutto nella difficoltà di apprendimento e di esecuzione da parte degli operatori di base, e nella impossibilità di ottenere informazioni nei casi di aumentata impedenza acustica dei tessuti materni e posizione fetale sfavorevole durante l’esame.

Per 25 anni, i medici sono stati in grado di diagnosticare le cardiopatie congenite in epoca prenatale. I grandi miglioramenti nella competenza degli operatori ed i progressi nella tecnologia ultrasonografica consentono di ottenere oggi una sensibilità e specificità diagnostica che si avvicina al 90% nel corso di un esame ecocardiografico eseguito da un operatore dedicato<sup>27,28</sup>. Tuttavia, a questi progressi non è corrisposta un miglioramento della diagnosi generale delle cardiopatie congenite in epoca prenatale<sup>27,29,30</sup>.

Nel tempo sono stati introdotti vari metodi di screening per cercare di individuare feti a rischio per cardiopatia congenita ma nessuno di questi ha consentito un aumento della percentuale di diagnosi nelle cardiopatie congenite. Attualmente, le donne in gravidanze a basso rischio si sottopongono alla valutazione standard delle 4 camere cardiache e, ove possibile la valutazione degli efflussi cardiaci da operatori non specificatamente dedicati alla esecuzione di ecocardiografia fetale.

Infine alcuni rapporti provenienti da importanti centri di riferimento cardiaci pediatrici indicano che la diagnosi prenatale delle cardiopatie congenite migliora i risultati del trattamento postnatale<sup>31,32</sup>.

**IIA** Si raccomanda l'esecuzione di ecocardiografia fetale nelle gravidanze a basso rischio eseguita da operatore dedicato.

### **L'esame "basic"**

L'esame di "base" comprende lo studio della posizione cardiaca nel torace, la frequenza cardiaca fetale e la valutazione delle quattro camere cardiache.

#### *Posizione del cuore*

Il cuore deve essere posto nella parte sinistra del torace con apice cardiaco verso sinistra (levocardia) e l'asse cardiaco deve essere di  $45^{\circ} \pm 20$  (2DS).

L'asse cardiaco è valutato nella sezione trasversa del torace ed è l'angolo acuto che si forma dall'intersezione di un asse passante per il setto interventricolare e un asse che congiunge la vertebra e lo sterno. Un'anomalia dell'asse cardiaco aumenta il rischio di cardiopatie, soprattutto conotruncali<sup>33</sup>.

L'area del cuore deve essere circa 1/3 dell'area del torace.

### *Frequenza cardiaca fetale*

La frequenza cardiaca fetale (FC) deve essere compresa tra 120 e 160 bpm.

Lievi bradicardie transitorie (FC <110 bpm) durante l'ecografie del II trimestre sono prive di significato patologico.

Persistenti bradicardie, tachicardie o irregolarità del ritmo richiedono una valutazione ecocardiografica<sup>34</sup>.

### *Scansione Quattro Camere:*

Lo studio delle quattro camere cardiache deve permettere di evidenziare:

- entrambi gli atri presenti e di dimensione pressoché simili;
- septum primum e forame ovale;
- "flap" del forame ovale in atrio sinistro;
- due distinte valvole atrioventricolari;
- valvola atrio ventricolare destra (tricuspide) inserita più apicalmente rispetto alla sinistra (mitrale);
- entrambi i ventricoli presenti e di dimensioni pressoché simili;
- banda moderatrice nel ventricolo destro;
- setto interventricolare nella sua parte muscolare ed intermedia;
- contrattilità e spessore del miocardio sovrapponibile nel ventricolo destro e ventricolo sinistro.

Le vene polmonari possono spesso essere visualizzate in atrio sinistro ma la loro visualizzazione non deve essere considerata mandatoria nell'esame basic di screening.

### *L'esame extended: visualizzazione degli efflussi*

Se tecnicamente possibile (posizione fetale, ecogenicità) gli efflussi aortici e polmonari dovrebbero essere visualizzati.

La regolare emergenza dell'aorta dal ventricolo sinistro e dell'arteria polmonare dal ventricolo destro (scansione asse lungo di sinistra e asse lungo di destra) ed il loro incrocio (con arteria polmonare anteriormente all'aorta) dovrebbe essere accertata. I due vasi dovrebbero avere un calibro simile.

Yoo et al.<sup>35</sup> hanno per primi descritto la scansione dei tre vasi, per valutare la posizione e il calibro dell'arteria polmonare, dell'aorta ascendente e della vena cava superiore.

Tale scansione non è sostitutiva delle scansioni degli assi lunghi nella identificazione della regolare emergenza dei grossi vasi ma può far porre il sospetto di una malformazione quando alterata<sup>36</sup>.

L'esame di base del cuore fetale (quattro camere) è parte integrante dello screening morfologico del II trimestre.

L'esame esteso (visualizzazione degli efflussi) lo diventa SOLO se posizione fetale ed ecogenicità materna lo consentono.

**IIC/B** In caso di non adeguata valutazione dell'anatomia fetale è mandatorio inviare la paziente per l'esecuzione dell'ecocardiografia fetale.

### **Cosa va refertato?**

Ogni ecografia va sempre accompagnata da un referto scritto, dettagliato, possibilmente redatto al computer per maggiore chiarezza.

Nel referto devono essere indicati:

- numero dei feti;
- vitalità del feto;
- biometria fetale;
- morfologia studiata (organi e strutture fetali visualizzati);

- quantità di liquido amniotico;
- posizione della placenta.

Al referto ecografico non è obbligatorio allegare fotografie dell'esame e/o registrazione dell'esame su supporto magnetico (cd, dvd, vhs). **IVD**

## Scansioni ben condotte consentono sempre la diagnosi delle anomalie?

Come detto in precedenza la sensibilità diagnostica dello screening delle malformazioni fetali, anche in mani esperte, non raggiunge mai il 100%<sup>4-11,18</sup>.

Questo perchè le anomalie fetali possono essere troppo piccole, possono comparire tardivamente in gravidanza (malattie del SNC o del sistema scheletrico), o la potenzialità diagnostica dell'esame essere limitata dalla ecogenicità della paziente (es obesità)<sup>20</sup>.

Scansioni bene condotte non sempre consentono il riscontro di anomalie, poichè alcune anomalie compaiono tardivamente in gravidanza e la potenzialità dell'ecografia può essere limitata da fattori contingenti (obesità materna, posizione fetale sfavorevole). **IIA**

## Quali sono gli studi ai quali fare riferimento per valutare la responsabilità dell'operatore medio (principio "ex post")?

### *Analisi della letteratura*

Occorre ricordare che lo standard di riferimento negli screening morfologici di primo livello, non può essere definita "a priori", cioè nessuna linea guida di comportamento può affermare ex ante che una tale anomalia deve essere visualizzata e diagnosticata. La responsabilità è strettamente collegata, invece, a quello che oggi, la maggior parte degli operatori medi, sono in grado di diagnosticare nella pratica quotidiana in Europa.

Lo standard di riferimento sul quale si basano le linee guida è, in definitiva, una valutazione derivante da una presa coscienza (ex post) di quello che gli è richiesto e di quello che non deve sbagliare. I confini ed il perimetro entro il quale si deve parlare di "good clinical practice" devono essere stabiliti da trial robusti, ampi e ben disegnati, e condotti su popolazione non selezionata.

Ad oggi l'unico studio prospettico su larga popolazione, mai pubblicato in letteratura che parli di sensibilità dello screening ecografico delle malformazioni fetali è l'EUROFETUS<sup>18</sup>.

Lo studio è stato condotto in 61 centri dal 1990 al 1993 su oltre 100.000 gravidanze esaminando circa 3.685 bambini nati con malformazioni da una popolazione di donne non selezionata, (cioè con rischio di base per anomalie strutturali fetali intorno al 2%) che si era sottoposta allo screening ecografico prenatale delle anomalie strutturali. Si sono comparati quindi i dati prenatali con quelli del periodo postnatale. Lo studio è stato pubblicato nel 1999. Lo scopo è stato quello di valutare le capacità diagnostiche dello screening delle anomalie fetali su una popolazione non selezionata di donne in gravidanza.

I dati hanno confermato come l'ecografia di screening delle anomalie fetali abbia una sensibilità globale di circa il 61%, che raggiunge il 74% quando si parla di anomalie fetali maggiori e si riduce al 45.7% in caso di anomalie fetali minori.

Tale sensibilità si abbassa ulteriormente quando rapportata all'epoca gestazionale, con una sensibilità globale del 55% prima della 24 settimana. Vale a dire: circa la metà delle malformazioni fetali maggiori possono essere non viste allo studio morfologico fetale. Ciò non deve sorprendere poiché alcune malformazioni rilevate alla nascita non sono mai state visualizzate in utero. Ovviamente nessuna possibilità esiste di diagnosticare anomalie piccole, in evoluzione, genetiche, sindromiche.

EUROFETUS rappresenta pertanto per gli addetti ai lavori un valido supporto alla pratica clinica perché unico studio prospettico, eseguito in 61 centri diversi su una popolazione non selezionata.

Esiste un secondo studio, l'EUROCAT<sup>37</sup>, che può essere preso ad ulteriore esempio per potere definire le capacità diagnostiche dell'ecografia in ambito di screening delle anomalie fetali maggiori. Tuttavia esso rappresenta uno studio retrospettivo che seppur di minore impatto clinico dell'EUROFETUS conferma ancora il concetto che la potenzialità diagnostica di un operatore medio non può essere valutata a priori (ex ante), sulla base di linee guida o concetti astratti sulle potenzialità diagnostiche, ma sulla realtà oggettiva cioè su quello che di fatto è possibile oggi studiare e diagnosticare (ex post).

Un altro fattore da tenere in considerazione è che la sensibilità diagnostica dell'ecografia può essere ulteriormente ridotta da fattori contingenti, in primo luogo l'obesità materna. Un recente studio ha evidenziato come la sensibilità diagnostica dell'ecografia si riduca con l'aumentare dell'indice di massa corporea materna.

In conclusione, come detto sopra preme ribadire che, associata la dipendenza dell'ecografia dall'operatore, e dato che generalmente esperti di alto livello culturale e tecnico non sono sempre disponibili per lo screening di massa a causa della loro esiguità numerica, l'operatore medio dovrebbe essere addestrato a riconoscere le deviazioni grossolane dalla normalità (malformazioni fetali maggiori) riferendo i casi sospetti o anomali per una diagnosi o per una convalida della stessa presso un centro a più alta specializzazione di II o III livello.

## **Esistono dei lavori randomizzati controllati che dimostrino la maggiore efficacia della RMN rispetto all'ecografia?**

Al momento non esistono studi randomizzati controllati che confrontino l'efficacia diagnostica dell'ecografia fetale e della risonanza magnetica.



## Bibliografia

1. Eurocat Working Group. Appendix 7 and Appendix 8 in Report 8: Surveillance of Congenital Anomalies in Europe 1980-99. University of ulster: 2002.
2. Saari-Kemppainen A, Karjalainen O, Ylostalo P, Heinonen OP. Ultrasound screening and perinatal mortality: controlled trial of systemic one-stage screening in pregnancy. *Lancet* 1990; 336:387-391.
3. Saltvedt S, Almstrom H, Kublickas M, et al. Detection of malformations in chromosomally normal fetuses by routine ultrasound at 12 or 18 weeks of gestation-a randomised controlled trial in 39,572 pregnancies. *BJOG* 2006; 113: 664-74.
4. Eurenus K, Axelsson O, Cnattingius S, et al. Second trimester ultrasound screening performed by midwives; sensitivity for detection of fetal anomalies. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica* 1999;78(2):98-104.
5. Stefos T, Plachouras N, Sotiriadis A, et al. Routine obstetrical ultrasound at 18-22 weeks: our experience on 7,236 fetuses. *Journal of Maternal- Fetal Medicine* 1999;8(2):64-9.
6. Nakling J, Backe B. Routine ultrasound screening and detection of congenital anomalies outside a university setting. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica* 2005;84(11):1042-8.
7. Nikkila A, Rydhstroem H, Kallen B, et al. Ultrasound screening for fetal anomalies in southern Sweden: a population-based study. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica* 2006;85(6):688-93.

8. Smith NC, Hau C. A six year study of the antenatal detection of fetal abnormality in six Scottish health boards. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1999;106(3):206–12.
9. Taipale P, Ammala M, Salonen R, et al. Learning curve in ultrasonographic screening for selected fetal structural anomalies in early pregnancy. *Obstetrics and Gynecology* 2003;101(2):273–8.
10. Bricker L, Garcia J, Henderson J, et al. Ultrasound screening in pregnancy: a systematic review of the clinical effectiveness, cost-effectiveness and women's views. *Health Technology Assessment* 2000;4:1–193.
11. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Recommendations arising from the 26th Annual RCOG Study Group: Intrapartum Fetal Surveillance. London: RCOG Press; 1998.
12. Neilson JP. Ultrasound for fetal assessment in early pregnancy. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 1999;(2).
13. Schwärzler P, Senat MV, Holden D, et al. Ultrasound *Obstet Gynecol.* 1999 Aug;14(2):92-7. Feasibility of the second-trimester fetal ultrasound examination in an unselected population at 18, 20 or 22 weeks of pregnancy: a randomized trial.
14. Training in diagnostic ultrasound: essentials, practice, and standards. Geneva, World Health Organization (WHO Technical Report Series, No. 875, 1998.
15. Richard S. Lee, Marc Cendron, Daniel D. Kinnamon, et al. Antenatal Hydronephrosis as a Predictor of Postnatal Outcome: A Meta-analysis. *Pediatrics* 2006;118;586-593.

16. Magann EF, Perry, Jr. KG, Chauhan SP, et al. The accuracy of ultrasound evaluation of amniotic fluid volume in singleton pregnancies: the effect of operator experience and ultrasound interpretative technique. *J Clin Ultrasound* 1997; 25: 249-53.
17. Magann EF, Chauhan SP, Whitworth NS, et al. Subjective versus objective evaluation of amniotic fluid volume of pregnancies of less than 24 weeks' gestation: how can we be accurate? *J Ultrasound Med* 2001; 20: 191-5.
18. Grandjean H, Larroque D, Levi S. The performance of routine ultrasonographic screening of pregnancies in the Eurofetus Study *Am J Obstet Gynecol.* 1999 Aug;181(2):446-54.
19. Crane JP, LeFevre ML, Winborn RC, et al. A randomized trial of prenatal ultrasonographic screening: impact on the detection, management, and outcome of anomalous fetuses. The RADIUS Study Group. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171: 392-399.
20. Levi S, Zhang WH, Alexander S, et al. Short-term outcome of isolated and associated congenital heart defects in relation to antenatal ultrasound screening. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2003;21(6):532-8.
21. Sharland G., Allan L.D. Screening for congenital heart disease prenatally. Results of a 2 1/2 year study in the South-East Thames Region. *Br. J. Obstet. Gynecol.*, 1992, 99: 220-25.
22. Achiron R, Glaser J, Gelernter I, et al. Extended fetal echocardiographic examination for detecting cardiac malformations in low risk pregnancies. *BMJ*, 1992, 304:671-4.

23. Kirk J.S, Riggs T.W, Comstock CH. et al. prenatal screening for cardiac anomalies: the value of routine addition of the aortic root to the 4-chamber view. *Obstet. Gynecol.* 84: 427-31, 1994.
24. Tegnander E, Williams W, Johansen OJ, et al. Prenatal detection of heart defects in a non-selected population of 30,149 fetuses – detection rates and outcome. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006; 27: 252-65.
25. Carvalho JS, Mavrides E, Shinebourne EA, et al. Improving the effectiveness of routine prenatal screening for major congenital heart defects. *Heart* 2002; 88: 387–391.
26. International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology. Cardiac screening examination of the fetus: guidelines for performing the 'basic' and 'extended basic' cardiac scan. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006; 27: 107-13.
27. Garne E, Stoll C, Clementi M, Euroscan Group. Evaluation of prenatal diagnosis of congenital heart diseases by ultrasound: experience from 20 European registries. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004; 17:286–391.
28. Kovalchin JP, Silverman NH. The impact of fetal echocardiography. *Pediatr Cardiol* 2004; 25:299–306.
29. Acharya G, Sitras V, Maltau JM, et al. Major congenital heart disease in northern Norway: shortcoming of pre- and postnatal diagnosis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004; 83:1124–1129.
30. Tegnander E, Eik-Nes SH, Johansen OJ, et al. Prenatal detection of heart defects at the routine fetal examination at 18 weeks in a non-selected population. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995; 5:372–380.

31. Bonnet D, Coltri A, Butera G, et al. Detection of transposition of the great arteries in fetuses reduces neonatal morbidity and mortality. *Circulation* 1999; 99:916–918.
32. Tworetzky W, McElhinney D, Reddy VM, et al. Improved surgical outcome after fetal diagnosis of hypoplastic left heart syndrome. *Circulation* 2001; 103:1269–1273.
33. Smith RS, Comstock CH, Kirk JS, Lee W. Ultrasonographic left cardiac axis deviation: a marker for fetal anomalies. *Obstet Gynecol* 1995; 85:187 – 191.
34. Copel JA, Liang RI, Demasio K, et al. The clinical significance of the irregular fetal heart rhythm. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182: 813–817.
35. Yoo S-J, Lee Y-H, Kim ES, et al. Three-vessel view of the fetal upper mediastinum: an easy means of detecting abnormalities of the ventricular outflow tracts and great arteries during obstetric screening. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1997; 9: 173–182.
36. Yoo S-J, Lee Y-H, Cho KS. Abnormal three-vessel view on sonography: a clue to the diagnosis of congenital heart disease in the fetus. *AJR Am J Roentgenol* 1999; 172: 825–830.
37. Garne E, Loane M, Dolk H, et al. Barisic I Prenatal diagnosis of severe structural congenital malformations in Europe *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2005 Jan;25(1): 16-11.



# SCREENING PRENATALE DELLA SINDROME DI DOWN 3

*N.B. I test di screening biochimici, mentre sono efficaci per l'individuazione del **rischio** di sindrome di down e trisomia 18 non possono essere utilizzati per l'individuazione delle gestanti da sottoporre a test invasivi per tutte le altre patologie congenite. Essi, quindi, vanno ben distinti dalla diagnosi prenatale invasiva.*

La sindrome di Down, trisomia 21, è una sindrome congenita che insorge quando è presente una copia soprannumeraria del cromosoma 21.

In generale la sua prevalenza media è di circa 1 su 700 bambini nati. In Italia attualmente la sua prevalenza è di circa 1/1200 nati vivi. La sindrome di Down comporta difficoltà di apprendimento ed è anche associata ad una aumentata incidenza di malformazioni congenite (in particolare cardiache e anomalie gastrointestinali), così come un aumento dell'incidenza di disordini tiroidei, leucemie infantili, alterazioni dell'udito, della vista e problemi respiratori. Circa la metà dei bambini con sindrome di Down nascono con difetti cardiaci che richiedono un intervento chirurgico, con tassi di sopravvivenza alti.

I programmi di screening per la sindrome di Down dovrebbero iniziare con la diffusione di informazioni basate sulla medicina dell'evidenza, che permettano alle donne di prendere decisioni autonome ed informate. Queste informazioni dovrebbero essere

rese disponibili nella consultazione all'inizio della gravidanza, in modo che le donne abbiano abbastanza tempo per considerare attentamente le opzioni disponibili e chiedere ulteriori informazioni se necessario.

I programmi di screening per la sindrome di Down si svolgono durante il primo o secondo trimestre attraverso uno studio ecografico del feto, e/o uno studio biochimico su siero materno, o una combinazione di entrambi.

L'associazione della sindrome di Down con l'età materna è stata riconosciuta fin dai primi anni '90<sup>1</sup>. L'età materna, tuttavia, ha una bassa sensibilità diagnostica per la diagnosi della SD (30%)<sup>2</sup>. Risulta pertanto evidente che la sola età, come criterio per la SD, ad oggi deve essere abbandonato<sup>3</sup>. Negli anni '80, sono iniziati gli screening per i difetti del tubo neurale con l'utilizzo del dosaggio dell'alfa fetoproteina nel siero materno (MSAFP) e questa pratica fu introdotta negli Stati Uniti ed ufficialmente raccomandata dall'ACOG come una componente di assistenza prenatale nel 1985. Dal 1986 al 1995, l'aggiunta della subunità beta della gonadotropina corionica umana (B-hCG), dell'estriolo non coniugato (uE3) e della inibina ha portato all'introduzione del *test a due marcatori* (MSAFP e b-hCG), il *triplo-test* (MSAFP, b-hCG, e uE3) ed il *quadruplo test* (MSAFP, b-hCG, uE3 e inibina). L'aggiunta di ulteriori markers biochimici aumenta la sensibilità per la diagnosi della sindrome di Down a scapito dei costi e a favore della complessità degli screening stessi.

Mentre l'attenzione iniziale degli screening biochimici era incentrata prevalentemente sul secondo trimestre, una serie di marcatori del primo trimestre sono stati recentemente resi disponibili. I marcatori più studiati nel primo trimestre sono **free b-hCG, e la proteina A plasmatica associata alla gravidanza (PAPP-A)**.

Infine l'introduzione dell'uso degli ultrasuoni come strumento di indagine del primo trimestre ha ulteriormente modificato la possibilità diagnostica della SD.



Studi condotti all'inizio e alla metà degli anni '90 hanno rivelato una forte associazione tra l'aumento della *translucenza nucale* ed un rischio aumentato della sindrome di Down e di altre anomalie cromosomiche<sup>4-6</sup>.

### **A quali donne in gravidanza devono essere consigliati i test di screening per la Sindrome di Down?**

La probabilità di concepire un feto con trisomia aumenta con l'età materna. Lo screening prenatale per le aneuploidie dovrebbe iniziare con una discussione dei rischi legati all'età materna di avere un bambino con anomalie cromosomiche. Il più semplice degli schemi consiste nella verifica dell'età della donna.

Dal 1970, una donna con un'età superiore ai 35 anni al momento del parto veniva considerata ad alto rischio e le veniva offerta la possibilità di eseguire (gratuitamente, nelle strutture pubbliche) l'amniocentesi o il prelievo dei villi coriali. Al contrario, se sotto i 35 anni, veniva considerata a basso rischio e non le veniva proposta l'esecuzione della diagnosi prenatale invasiva. Tuttavia con questo approccio, se il 15% delle donne in gravidanza in una data popolazione ha un'età superiore ai 35 anni, sarà rilevato circa il 40% dei casi di sindrome di Down con un 15% di falsi positivi<sup>7</sup>.

Appare quindi evidente come uno screening basato solo sull'età materna abbia delle performances inferiori agli screening più recenti che si avvalgono di marcatori biochimici multipli con o senza valutazione ecografica della translucenza nucale al primo trimestre. Queste ultime strategie forniscono cioè un tasso di falsi positivi notevolmente ridotto ed un sostanziale miglioramento della detection rate se applicato in tutte le età. È stato quindi suggerito che l'età materna da sola come una strategia di screening debba essere abbandonata<sup>3</sup>.

In alcuni studi tuttavia si è proposto di continuare lo screening sulla base di età materna poiché essa è capace di individuare altre aneuploidie legate all'età materna come, ad esempio, le trisomie 13 e 47, la XXX 47, XXY, così come altre anomalie cromosomiche non collegate all'età materna; tuttavia, la trisomia 13 ha una prevalenza inferiore alla sindrome di Down e di solito è associata ad anomalie più frequentemente rilevate in un screening ecografico a 18-22 settimane<sup>8</sup>.

Le anomalie dei cromosomi sessuali (47, XXX, 47, XXY) non sono sottoposte a screening ecografico o biochimico materno, tuttavia il rischio di incidenza si avvicina attorno ad una probabilità di 1:200 solo per le donne oltre 44 anni di età. Sulla base di queste argomentazioni, gli screening che utilizzano la sola età materna per inviare alla diagnosi prenatale non devono essere più proposti per le donne di età superiore a 40.

Pertanto a tutte le donne in gravidanza, indipendentemente dall'età, dovrebbe essere offerto un test di screening prenatale non invasivo per la valutazione del rischio della sindrome di Down e della trisomia 18, e sarebbe opportuno offrire test invasivi solo se il rischio di aneuploidia cromosomica è al di sopra del rischio di cut-off fissato per il test di screening<sup>9</sup>.

**IA/A**

A tutte le donne in gravidanza, dovrebbe essere offerto lo screening del I trimestre per la sindrome di Down, indipendentemente dall'età materna.

**IIB/A**

L'uso della sola età materna come parametro per la Sindrome di Down non deve essere più utilizzato. Le donne con età superiore o uguale ai 40 anni devono essere informate e deve essere loro offerta la possibilità di accedere ai test di screening per modificare il rischio di partenza.

## Quale test deve essere scelto per la valutazione del rischio della S. di Down?

La disponibilità di markers biochimici sierici del primo e secondo trimestre per la sindrome di Down e l'uso degli ultrasuoni come un marker quantitativo hanno condotto ad una proliferazione di strategie e algoritmi che potrebbero potenzialmente essere utilizzate.

I test oggi disponibili sono:

### **a 11-14 settimane:**

- Translucenza nucale (NT);
- Test combinato (NT + free Beta-hCG + PAPP-A);

### **a 15 - 20 settimane:**

- Duo test (hCG, uE3);
- Triplo test (hCG, uE3, AFP);
- Quadruplo test (hCG, uE3, AFP, inibina A);

### **a 11-14 settimane e poi a 15-20 settimane:**

- Test integrato (test combinato a 11-14 settimane, seguite da AFP, uE3 e inibina A a 15-20 settimane);
- Prova di siero integrato (PAPP-A e hCG a 11-14 settimane, seguite da AFP, uE3 e inibina A a 15-20 settimane).

Il test di screening più appropriato per la sindrome di Down dovrebbe avere il più basso tasso di falsi positivi e la più alta detection rate. Ovviamente in questo calcolo va anche annoverato il costo intrinseco della metodica. In generale, i costi associati con lo screening sono misurati rapportando il costo di ogni diagnosi prenatale di Sindrome di Down. Questo è stato stimato utilizzando diverse opzioni di screening in diversi studi<sup>10-14</sup>.

Una delle difficoltà dell'analisi dei costi è che la spese associate alla valutazione della biochimica ed all'esame ecografico variano notevolmente da un paese all'altro. In virtù di questi dati lo standard minimo garantito da ogni test di screening da offrire alla popolazione italiana dovrebbe avere una detection rate di

almeno 75% con un tasso di falsi positivi intorno al 5% per la sindrome di Down.

IIIA/C

Lo standard minimo garantito da ogni test di screening da offrire alla popolazione italiana dovrebbe avere una detection rate di almeno 75% con un tasso di falsi positivi intorno al 5% per la sindrome di Down.

## Qual è l'accuratezza diagnostica dei test di screening?

*In quale epoca gestazionale vanno eseguiti?*

Una volta che un test di screening è stato eseguito, viene espressa una probabilità che il feto sia affetto dalla sindrome di Down tenendo conto dell'età materna e dell'epoca gestazionale effettiva. I risultati sono classificati come "positivi" se la probabilità è uguale o maggiore di un cut-off prestabilito. Questo è spesso espresso in cifre per indicare la probabilità che una donna abbia un bambino affetto da sindrome di Down ed il cut-off universalmente accettato è di 1/250 probabilità. Allorché una donna ottenga un risultato positivo a seguito dell'esecuzione del test di screening, le verrà offerta la possibilità di eseguire un test diagnostico invasivo, prelievo dei villi coriali (a seguito di screening del primo trimestre) o amniocentesi (a seguito di un test di screening del secondo trimestre). Gli unici test che consentono una diagnosi di certezza tramite lo studio del cariotipo fetale sono il prelievo dei villi coriali o l'amniocentesi.

Quando ad una donna viene offerto un test diagnostico invasivo dopo un risultato dello screening positivo, deve essere informata dei rischi associati con il test invasivi e che possono essere identificate molte altre anomalie cromosomiche e/o genetiche, non solo la sindrome di Down.

In generale alcuni studi hanno presentato i dati sulle prestazioni degli screening in termini di accuratezza diagnostica sulla base dei risultati dello studio. Ove possibile, i risultati sono stati

presentati con un tasso fisso di falsi positivi (FPR) del 5% (calcolato ovunque), al fine per consentire il confronto tra i risultati.

### *Analisi della letteratura*

Gli studi inclusi sono stati stratificati in base a:

1. periodo di esecuzione del test di screening, cioè, condotto solo nel primo trimestre, solo nel secondo trimestre, o in entrambi;
2. il tipo di anomalia rilevata i feti con solo sindrome di Down o in associazione ad altre anomalie cromosomiche.

### **Il primo trimestre**

Quindici studi sono stati inclusi. Inizialmente sono stati identificati studi prospettici di coorte, tra cui sei multicentrici. Tre di questi studi comprendevano una popolazione non selezionata, uno studio ha incluso sia popolazione selezionata che non selezionata, e cinque solo popolazione selezionata. Fatta eccezione per un singolo studio<sup>15</sup> la metodologia del test di screening e la qualità delle misure utilizzate per monitorare lo studio sono state adeguatamente spiegate. I follow-up di tutti gli studi si sono basati su schemi di riferimento accurati (valutazione del cariotipo, valutazione postnatale). I test di screening sono stati effettuati prima dell'esecuzione dei test diagnostici di riferimento sopra citati nella maggior parte degli studi.

Inoltre, considerando che i tre studi sull'uso dell'osso nasale come markers di aneuploidie ha dato risultati contrastanti, sono stati introdotti ed esaminati altri sei studi. Tutti questi studi sono studi di coorte, prospettici ma di bassa qualità (sono tutti di Livello di Evidenza III a causa di una popolazione selezionata, o di un controllo di qualità o follow-up incompleti o inadeguati).

### *Sindrome di Down e altre anomalie cromosomiche*

Tre studi hanno valutato il test combinato<sup>16-18</sup> e tre la presenza dell'osso nasale fetale con l'ecografia<sup>19-21</sup>. Dati i risultati controversi derivanti da questi tre studi sull'osso nasale, ulteriori sei studi sono stati valutati<sup>21-23</sup>. I risultati derivante da una coorte di buona qualità<sup>16</sup> ha mostrato come il test combinato abbia un tasso di rilevamento della SD del 92,6% ed un tasso di falsi positivi del 5,2% ed un tasso leggermente inferiore di rilevamento per la trisomia 18 o 13 ed altre anomalie cromosomiche.

Risultati simili sono stati osservati in un altro studio<sup>18</sup>, mentre il terzo studio<sup>17</sup> ha mostrato una percentuale di rilevamento inferiore, ed una maggiore incidenza dei falsi positivi.

Risultati contrastanti sono stati osservati per l'accuratezza diagnostica derivante dalla valutazione dell'osso nasale fetale. Mentre uno studio<sup>20</sup> sull'osso nasale fetale ha mostrato di aumentare il tasso di rilevamento della sindrome di Down dal 90% al 93% (con falsi positivi al 5%) in confronto all'utilizzo del solo test combinato, l'altro studio<sup>19</sup> ha dimostrato un valore diagnostico molto basso. Il terzo studio<sup>21</sup> aveva una accuratezza diagnostica variabile a seconda che si considerasse la popolazione selezionata e non selezionata.

I risultati degli altri sei studi che hanno valutato il tasso di rilevamento legato all'osso nasale fetale sono stati inconcludenti ed è stata osservata un'ampia variazione. In due studi<sup>24,25</sup> la valutazione dell'osso nasale ha migliorato il tasso di rilevamento confrontato con l'utilizzo del solo test combinato, ma in uno studio<sup>23</sup> c'è stata addirittura una riduzione del tasso di rilevamento. La sensibilità e l'accuratezza diagnostica dell'osso nasale fetale varia dal 32% al 70% nel resto degli studi.

Appare pertanto evidente come la visualizzazione dell'osso nasale fetale sia legato a molti fattori tra cui, alcuni anche piuttosto

importanti: l'epoca gestazionale effettiva, la popolazione screenata (alto-basso rischio).

### *Sindrome di Down*

I risultati di accuratezza diagnostica dei tre studi inclusi sono simili. Mentre uno studio multicentrico ha mostrato un tasso di rilevamento del 79,6% ed il 2,9% di falsi positivi, gli altri due hanno mostrato tassi di rilevazione del 90,3% e 82% ed il 5% di falsi positivi.

Nel I trimestre di gravidanza l'uso della valutazione dell'osso nasale per aumentare la sensibilità diagnostica per la sindrome di Down non ha dato risultati univoci.

IIIC

Nel I trimestre di gravidanza il test combinato risulta il migliore per sensibilità diagnostica per lo screening della Sindrome di Down.

IA

Il 'test combinato' (translucenza nucale, beta-gonadotropina corionica umana, la proteina plasmatica-A associata alla gravidanza) dovrebbe essere proposto per lo screening per la sindrome di Down tra 11 settimane 0 giorni e 13 settimane 6 giorni.

IA

## **Come si esegue la misurazione della translucenza nucale e quali sono i test di screening disponibili per la valutazione del rischio di Sindrome di Down?**

I seguenti elementi risultano essenziali affinché la misurazione sia attendibile e ripetibile:

- Operatore esperto che sia stato formato attraverso apposito training;
- Apparecchiatura ecografica di alta qualità (sonde elettroniche meglio se a matrice) che permetta un

fattore di “magnificenza” (zoom) di almeno 6x senza perdita di nitidezza.

- I seguenti criteri ecografici:
  - Il CRL deve essere compreso tra i 45 e gli 84mm;
  - La scansione deve essere sagittale mediana del feto (per essere certi di aver ottenuto la scansione corretta bisogna visualizzare il profilo fetale) con ingrandimento;
  - Elemento essenziale risulta il differenziare la cute fetale dalla membrana amniotica su cui spesso il feto è adagiato;
  - Il feto deve essere in una posizione “neutra”, cioè non troppo esteso e non particolarmente flesso; la stessa scansione che si utilizza per la misurazione del CRL. In una posizione di iperestensione si potrebbe soprastimare la rilevazione della TN; al contrario una iperflessione della testa fetale potrebbe indurre a sottostimare la TN stessa;
  - Ottenuta la scansione e l’ingrandimento corretto;
  - I calipers vanno posizionati sul punto di massimo spessore di TN e sul margine interno delle due linee iperecogene;
  - Nel corso dell’esame vanno eseguite più misurazioni e viene utilizzato nel calcolo del rischio quella di entità maggiore ma che abbia “obbedito” a tutti i requisiti suddetti;
  - Nel 95% dei casi la misurazione della TN può essere ottenuta per via trans addominale, nel restante 5% dei casi viene utilizzato l’approfondimento transvaginale quando la TN risulta borderline o quando c’è una scarsa



ecogenicità legata all'alta impedenza acustica dei tessuti addominali della gestante.

I test di screening basati sulla misurazione della translucenza nucale (NT), o “combinato” (ecografico e biochimico), sono molteplici. Vista la variabilità internazionale ogni nazione dovrebbe utilizzare il proprio software costruito su popolazione autoctona.

Si elencano i più noti:

- I Genetic Sonography (Los Angeles);
- II Genetic Sonogram (Boston);
- III Age Adjusted Ultrasound Risk Assessment (Seattle);
- IV Prisca (Germania);
- V SCA-Test (Italia);
- VI Software SFAPE (Francia);
- VII Software della FMF (Inghilterra).

Ognuno di questi programmi utilizza un software di controllo di qualità. Quello nazionale italiano (SCA-test) è annuale.

La valutazione della translucenza nucale nel primo trimestre dovrebbe essere interpretata per la valutazione del rischio solo se effettuata da ecografisti esperti ed accreditati per fornire questo servizio e con garanzie di qualità in corso.

**II B**

Gli screening non forniscono una diagnosi definitiva e deve essere fornita una spiegazione completa del punteggio di rischio ottenuto a seguito del test.

**III A**

Devono essere date informazioni sulle metodiche di diagnosi prenatale invasiva (prelievo dei villi coriali ed amniocentesi).

IIA

A seguito di un risultato positivo dopo l'esecuzione di un test non invasivo per il calcolo del rischio della sindrome di Down, dovrebbe essere consentito un accesso rapido ad un'adeguata consulenza eseguita da personale qualificato (genetisti prenatali).

## Il secondo trimestre

Pochi studi si sono occupati dei test di screening su siero materno effettuati esclusivamente nel II trimestre di gravidanza. In questa sezione verranno presi in considerazione studi di buona qualità sui marcatori sierici confrontando i test di screening del primo trimestre con quelli del secondo trimestre. Sono stati identificati una serie di studi che hanno valutato l'impiego di ultrasuoni per identificare dei "soft markers" – ispessimento della plica nucale, cisti dei plessi coroidei, foci iperecogeni intracardiaci, pielectasia renale e un accorciamento del femore. In generale la qualità di questi studi è bassa.

Sono stati selezionati cinque studi per questa sezione tre meta-analisi, uno studio di coorte prospettico ed uno studio di coorte retrospettivo. Dato che questi studi sono molto diversi gli uni dagli altri, i loro dati non potevano essere tabulati. Gli studi del secondo trimestre sono stati ulteriormente suddivisi in base alle anomalie per le quali sono stati eseguiti.

### (A) **Sindrome di Down e altre anomalie cromosomiche**

#### *Descrizione degli studi inclusi*

Un unico studio di coorte<sup>28</sup> con la valutazione del quadruplo test su siero materno per la sindrome di Down, trisomia 18, e difetti del tubo neurale (DTN) è stato condotto in uno stato australiano. Il periodo in cui è stato condotto lo studio è stato tra il 1998 ed il 2000. Il cut-off per il rischio per la Sindrome di Down è stato definito come  $> 1: 250$  e  $> 1: 200$  per la trisomia 18. I livelli di

AFP > 2,5 MoM sono stati considerati ad alto rischio per NTD. Nessuna menzione è stata fatta circa monitoraggio della qualità del test. Sono stati calcolati per ciascuna condizione l'accuratezza diagnostica, il valore predittivo positivo e negativo,

### Risultati

In questo studio retrospettivo, il follow-up completo è stato eseguito sul 99,2% di tutte le gravidanze incluse durante il periodo di studio. La popolazione di studio era costituita da 19.143 e 154 gravidanze sono state perse al follow-up. La prevalenza della sindrome di Down, della trisomia 18 e NTD è stata rispettivamente dello 0,16%, 0,05% e 0,08%.

### Risultati dell'accuratezza del quadruplo test:

	DR	FP	VPP
<b>Per la sindrome di Down</b>			
Quadruplo test (rischio $\geq$ 1:250)	85% (95% CI 72 - 99)	6,8%	2%
Quadruplo test (FP 5%) per la trisomia 18	78%	5.0%	2.5%
Quadruplo test (rischio $\geq$ 1:200) Per DTN (AFP $\geq$ 2.5 MoM)	44% (95% CI 12 - 77)	0.5%	4.7%
<b>Tutti DTN</b>	73%	1.1%	5.6%
Spina bifida	50%	1.1%	2.1%
<i>Anencefalia</i>	100%	1.1%	3.1%

### (B) Solo la Sindrome di Down

Quattro studi (tre meta-analisi e uno studio prospettico di coorte) sono stati identificati. Gli studi di meta-analisi sono stati mirati all'uso dei soft markers l'efficacia dei marcatori tripli, e alla valutazione dei foci iperecogeni intracardiaci. Il quarto studio è

uno studio prospettico di buona qualità per valutare le prestazioni della pielectasia fetale rilevata all'ecografia nella diagnosi della Sindrome di Down.

### *Descrizione degli studi inclusi*

Si è valutata per prima una meta analisi<sup>29</sup> condotta per valutare l'accuratezza diagnostica dell'ecografia nel secondo trimestre di gravidanza nella rilevazione sindrome di Down. Sono stati inclusi in essa tutti gli studi di 'marcatori soft' – cisti dei plessi coroidei, ispessimento della plica nucale, focus iperecogeno intracardiaco, intestino iperecogeno, pielectasia renale, e brevità omerale e femorale. I criteri di esclusione erano ben definiti, ma la valutazione della qualità degli studi non è stata specificata.

Un'altra meta-analisi<sup>30</sup> ha valutato l'efficacia del triplo test per la rilevazione della sindrome di Down.

Solo gli studi di coorte sono stati considerati. I criteri di inclusione e di esclusione erano ben definiti.

Una terza meta-analisi<sup>31</sup> è stata condotta per valutare la performance diagnostica dei foci intracardiaci. Sono stati considerati studi prospettici e retrospettivi (compresi caso-controllo).

Infine uno studio di coorte prospettico è stato effettuato<sup>32</sup> in un unico centro medico in Italia (1998-2002) con l'obiettivo di determinare se pielectasia isolata sia un fattore di rischio per la sindrome di Down. I criteri di inclusione erano ben definiti e un esame ecografico approfondito è stato effettuato per tutti i soft markers tra 16 e 23 settimane di gestazione. Monitoraggio della qualità degli ultrasuoni non è stato specificato.

## *Risultati*

Nella prima metanalisi<sup>33</sup> sono stati inclusi 56 studi che hanno coinvolto 1.930 bambini con sindrome di Down e 130.365 feti normali. Quarantanove studi sono stati condotti in donne ad alto rischio. Nel complesso la prevalenza della sindrome di Down è stata di 1,5%, e il risultato del cariotipo è stato valutato in 53 studi.

È stata segnalata una eterogeneità nei risultati per tutti i reperti ecografici. Due fattori sono stati definiti per la responsabilità di questa eterogeneità: (I) disegno dello studio (prospettico o retrospettivo) e (II) se il marcatore è stato visto in maniera isolata o insieme ad altre anomalie strutturali del feto. La sensibilità per la rilevazione sindrome di Down con un singolo marker isolato è stata bassa (1% per le cisti del plesso coroideo fino ad un massimo del 16% per il femore corto). La specificità per ogni marcatore se vista singolarmente è stata superiore al 95%. Fatta eccezione per spessore della plica nucale (LR + di 17), il LR + per gli altri marcatori è risultato essere più basso.

La seconda meta-analisi che ha analizzato il triplo test<sup>30</sup> ha incluso 20 studi di coorte che coinvolgono un totale di 194.326 donne in gravidanza. Gli studi analizzati sono apparsi subito eterogenei. I cut-off utilizzati in questi studi variavano da 1: 190 a 1: 380. In soli quattro studi era a disposizione il cariotipo fetale per tutte le donne studiate. Il follow-up sull'esito della gravidanza era incompleto in otto studi. Il triplo test ha dato una sensibilità elevata per le donne di età superiore ai 35 anni, ma non ha dato benefici sul gruppo di donne più giovani.

La terza meta-analisi riguardante i focus iperecogeni cardiaci<sup>31</sup> ha incluso 11 studi (cinque retrospettivo tra cui due caso-controllo). I dati consistevano in 51.831 feti analizzati con 333 casi di sindrome di Down (difetto associato: 27.360 con 321 casi di sindrome di Down; 'isolato': 39.360 con 130 casi di sindrome di Down).

È stato stimato che la probabilità di avere un feto affetto con la sindrome di Down (supponendo un LR + 6.2), dopo la visualizzazione di un focus intracardiaco sarebbe dello 0,44% in una popolazione con una prevalenza della sindrome di 1: 1.400, 0,62% con una prevalenza di 1: 1.000, e 1,03% con una prevalenza di 1: 600. Nello studio prospettico di coorte sulla pielectasia renale<sup>32</sup> l'età media della madre è di  $27,2 \pm 5,5$  anni e la prevalenza della sindrome di Down è stata di 0,09% (11 casi). Nella popolazione in studio, la prevalenza di pielectasia è stata del 2,9%, con 83,3% di questi, come un reperto isolato. Solo un caso di sindrome di Down è stata identificato con pielectasia. La presenza di pielectasia isolata aveva una sensibilità del 9,1% (95% CI 1,62-37,4%), specificità del 97,6% (95% CI 97,32-97,85%), VPP 0,33%, VPN 99,9%, LR + 3,8 (CI 95% 0,58-24,61) e LR-0.9 (CI 95%,77-112). Tra i feti con pielectasia e altri marker associati, la sensibilità, specificità, VPP, NPV e LR + sono stati 9,1%, 99,5%, 1,6%, 99,9% e 19,2 (CI 95% 2,91-126,44), rispettivamente.

## **Studi sul test combinato primo-secondo trimestre di gravidanza**

### *Descrizione degli studi inclusi*

Sono stati inclusi quattro studi di buona qualità: tre studi prospettici di coorte<sup>34-36</sup> ed un altro caso-controllo. Tutti gli studi sono stati multicentrici e con obiettivi chiaramente definiti.

### *Risultati*

Tutti gli studi selezionati erano volti alla sola rilevazione della sindrome di Down. Lo studio migliore ha mostrato che il miglior test sia quello integrato<sup>34</sup> con una detection rate (DR) del 96% per una percentuale di falsi positivi fissa del 5%, seguito dal test sierologico integrato (DR 88%), test combinato (DR 87%) e il test quadruplo (DR 81%). Risultati simili sono stati osservati nello studio caso controllo. Un altro studio<sup>35</sup> ha dimostrato che il test integrato del siero abbia una migliore accuratezza

diagnostica rispetto ai test sierologici del secondo trimestre (triplo e quadruplo test).

L'ultimo studio, ha analizzato lo screening sequenziale utilizzando il triplo test dopo il test combinato del primo trimestre determinando una DR del 85,7% a FP del 8,9%.

Quando non è possibile misurare la translucenza nucale, a causa di posizione fetale sfavorevole o per indice di massa corporea elevato, lo screening su siero materno dovrebbe essere offerto (triplo o quadruplo test) tra + 15 settimane 0 giorni e 20 settimane 0 giorni.

**IIIA**

## Bibliografia

1. Nicolaides KH. Screening for fetal chromosomal abnormalities: need to change the rules. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1994;4(5):353–4.].
2. Rose NC. On the current dilemma of Down syndrome screening. *Obstet Gynecol* 2006; 107(1):2–3.].
3. Resta RG. Changing demographics of advanced maternal age (AMA) and the impact on the predicted incidence of Down syndrome in the United States: Implications for prenatal screening and genetic counseling. *Am J Med Genet A* 2005;133:31–6.
4. Nicolaides KH, Brizot ML, Snijders RJ. Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for fetal trisomy in the first trimester of pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1994;101(9):782–6.
5. Pandya PP, Brizot ML, Kuhn P. First-trimester fetal nuchal translucency thickness and risk for trisomies. *Obstet Gynecol* 1994;84(3):420–3.
6. Pandya PP, Snijders RJ, Johnson SP. Screening for fetal trisomies by maternal age and fetal nuchal translucency thickness at 10 to 14 weeks of gestation. *Br J Obstet Gynaecol* 1995; 102(12):957–62.].
7. Summers AM, Farrell SA, Huang T, et al. Maternal serum screening in Ontario using the triple marker test. *J Med Screen* 2003;10:107–11].
8. Nyberg DA, Souter VL. Sonographic markers of fetal trisomies: second trimester. *J Ultrasound Med* 2001;20:655–74. Shipp TD, Benacerraf BR. Second trimester ultrasound screening for chromosomal abnormalities. *Prenat Diagn* 2002;22:296–307].



9. ACOG Practice Bulletin 77 Obstetrics & Gynecology Vol. 109, No. 1, January 2007.
10. Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, et al. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the Serum, Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS). *J Med Screen* 2003;10:56–104.
11. Odibo AO, Stamilio DM, Nelson DB, et al. A cost-effectiveness analysis of prenatal screening strategies for Down syndrome. *Obstet Gynecol* 2005;106:562–8.
12. Vintzileos AM, Ananth CV, Smulian JC, et al. Cost-benefit analysis of prenatal diagnosis for Down syndrome using the British or the American approach. *Obstet Gynecol* 2000;95:577–83.
13. Caughey AB, Kuppermann M, Norton ME, Washington AE. Nuchal translucency and first trimester biochemical markers for Down syndrome screening: a cost-effectiveness analysis. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187:1239-45.
14. Biggio JR Jr, Morris TC, Owen J, Stringer JS. An outcomes analysis of five prenatal screening strategies for trisomy 21 in women younger than 35 years. *Am J Obstet Gynecol* 2004;190:721–9.. 8-12].
15. Crossley JA, Aitken DA, Cameron AD, et al. Combined ultrasound and biochemical screening for Down's syndrome in the first trimester: a Scottish multicentre study. *BJOG: an International Journal of Obstetrics and Gynaecology* 2002;109(6):667–76].

16. Nicolaides KH, Spencer K, Avgidou K, et al. Multicenter study of first-trimester screening for trisomy 21 in 75 821 pregnancies: results and estimation of the potential impact of individual risk-orientated two-stage first-trimester screening. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2005;25(3):221–6.
17. Wapner R, Thom E, Simpson JL, et al. First-trimester screening for trisomies 21 and 18. *New England Journal of Medicine* 2003;349(15):1405–13.770.
18. Stenhouse EJ, Crossley JA, Aitken DA, et al. First-trimester combined ultrasound and biochemical screening for Down syndrome in routine clinical practice. *Prenatal Diagnosis* 2004;24(10):774–80.768-770].
19. Malone FD, Ball RH, Nyberg DA, et al. First-trimester nasal bone evaluation for aneuploidy in the general population. *Obstetrics and Gynecology* 2004;104(6):1222–8.
20. Cicero S, Avgidou K, Rembouskos G, et al. Nasal bone in first-trimester screening for trisomy 21. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2006;195(1):109–14.
21. Prefumo F, Sairam S, Bhide A, et al. First-trimester nuchal translucency, nasal bones, and trisomy 21 in selected and unselected populations. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2006;194(3):828–33.].
22. Ramos-Corp, Santiago JC, Montoya F. Ultrasonographic evaluation of fetal nasal bone in a low-risk population at 11–13 + 6 gestational weeks *Prenatal Diagnosis* 2006;26(2):112–17.
23. Kozłowski P, Knippel AJ, Froehlich S, et al. Additional performance of nasal bone in first trimester screening: Nasal bone in first trimester screening. *Ultraschall in der Medizin* 2006;27(4):336–9].

24. Weingertner AS, Kohler M, Firtion C, et al. Interest of foetal nasal bone measurement at first trimester trisomy 21 screening. *Fetal Diagnosis and Therapy* 2006;21(5):433–8.
25. Orlandi F, Rossi C, Orlandi E, et al. First-trimester screening for trisomy-21 using a simplified method to assess the presence or absence of the fetal nasal bone. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2005;192(4):1107–11.
26. Rozenberg P. Screening for Down syndrome using first-trimester combined screening followed by second-trimester ultrasound examination in an unselected population. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2006;195(5):1379–87].
27. Avgidou K, Papageorgiou A, Bindra R, et al. Prospective first-trimester screening for trisomy 21 in 30,564 pregnancies. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2005;192(6):1761–7.
28. Jaques AM, Collins VR, Haynes K, et al. Using record linkage and manual follow-up to evaluate the Victorian maternal serum screening quadruple test for Down's syndrome, trisomy 18 and neural tube defects. *Journal of Medical Screening* 2006;13(1):8–13.
29. Smith-Bindman R, Hosmer W, Feldstein VA, et al. Second-trimester ultrasound to detect fetuses with Down's syndrome. *JAMA* 2001;285:1044–55].
30. Conde-Agudelo A, Kafury-Goeta AC. Triple-marker test as screening for Down syndrome: a meta-analysis. *Obstetrical and Gynecological Survey* 1998;53:369–76].
31. Sotiriadis A, Makrydimas G, Ioannidis JP. Diagnostic performance of intracardiac echogenic foci for Down

- syndrome: a meta-analysis. *Obstetrics and Gynecology* 2003;101(5 Pt 1):1009–16.].
32. Coco C, Jeanty P. Isolated fetal pyelectasis and chromosomal abnormalities. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2005;193(3 Pt 1):732–8.]
  33. Smith-Bindman R, Hosmer W, Feldstein VA, et al. Second-trimester ultrasound to detect fetuses with Down's syndrome. *JAMA* 2001;285:1044–55].
  34. Malone FD, Canick JA, Ball RH, et al. First-trimester or second-trimester screening, or both, for Down's syndrome. *New England Journal of Medicine* 2005;353(19):2001–11.
  35. Knight GJ, Palomaki GE, Neveux LM, et al. Integrated serum screening for Down syndrome in primary obstetric practice. *Prenatal Diagnosis* 2005;25(12):1162–7.
  36. Platt LD, Greene N, Johnson A, et al. Sequential pathways of testing after first-trimester screening for trisomy 21. *Obstetrics and Gynecology* 2004;104(4):661–6.].
  37. Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, et al. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the serum, urine and ultrasound screening study (SURUSS). *Health Technology Assessment* 2003;7:1–88].

# L'ECOCARDIOGRAFIA FETALE 4

Le linee guida in ecocardiografia fetale hanno lo scopo di fornire degli standard atti ad aumentare la detection rate di anomalie cardiache nelle diverse epoche gestazionali.

Ciò contribuisce ad identificare feti a rischio di sindromi genetiche e cromosomiche e fornisce informazioni utili per il counselling alla paziente, per la gestione ostetrica e per il management multidisciplinare del caso.

## **Come definiamo l'ecocardiografia fetale?**

L'ecocardiografia fetale è un esame diagnostico con impostazioni e finalità diverse dallo studio del cuore eseguito routinariamente durante l'esame morfologico fetale.

È quindi un esame ecografico eseguito al fine di valutare il cuore fetale in termine di sospetto presenza/assenza di cardiopatia; nel caso in cui una patologia venisse sospettata, la descrizione dovrebbe avere la funzione di rilevare eventuale dipendenza

L'esame cardiaco di "base" o screening, prevede lo studio della sola scansione quattro camere del cuore fetale.

L'ecocardiografia fetale comprende invece lo studio delle quattro camere e la visualizzazione del tratto di efflusso ventricolare sinistro, del tratto di efflusso del ventricolo destro, dell'arteria polmonare principale e dei suoi rami, dei ritorni venosi sistemici e polmonari.

**IA** A tutte le donne in gravidanza con indicazione all'ecocardiografia fetale dovrebbe essere offerto l'esame ecocardiografico fetale completo.

### **Chi è l'esperto in ecocardiografia fetale?**

I tassi di diagnosi prenatale (detection rate) delle CC presentano un'estrema variabilità<sup>1</sup>. Tale variabilità può essere attribuita in parte all'esperienza dell'esaminatore e al tipo di apparecchiatura utilizzata, in parte alla presenza di fattori limitanti l'esame ecografico quali la presenza di cicatrici addominali, la scarsa quantità di liquido amniotico, la posizione fetale sfavorevole, l'età gestazionale a cui viene eseguito l'esame<sup>2,3</sup>.

In particolare, l'obesità materna, è alla base di una forte diminuzione della sensibilità diagnostica dell'ecografia nella diagnosi delle patologie cardiache<sup>4</sup> in alcuni casi l'ecogenicità della paziente anche non obesa risulta essere molto ridotta per l'utilizzo di creme cosmetiche che riducono sensibilmente la risoluzione dell'ecografia ostetrica.

Un training continuo degli operatori sembra aumentare la possibilità diagnostica dell'ecocardiografia fetale estesa<sup>5</sup>.

Un cardiologo pediatra che abbia fatto un buon training, un ginecologo specialista in medicina materno - fetale ed ecografia ostetrica che abbiano acquisito adeguate conoscenze e competenze

mediante un training di almeno due anni con personale altamente qualificato, possono eseguire l'ecocardiografia fetale.

Al fine del periodo di training, l'operatore dovrebbe dimostrare di aver acquisito conoscenze tecniche e diagnostiche.

A tal proposito sarebbe auspicabile la partecipazione a corsi avanzati di ecocardiografia presso Società Scientifiche accreditate italiane o internazionali (SICEF, SIDIP, SIEOG, ISUOG, AIUM ecc).

Può eseguire l'esame ecocardiografico esteso solo l'operatore che abbia eseguito almeno due anni di training con personale altamente qualificato. **IV**

### **Quali sono le modalità di imaging da utilizzare durante un'ecocardiografia fetale?**

Ci sono diverse modalità di imaging per valutare anomalie cardiache fetali, che vanno dalle tecniche tradizionali che comprendono il bidimensionale, l'M-mode, il Doppler pulsato e il Color Doppler all'utilizzo delle più moderne ed avanzate metodiche come il 4D e lo "spatio temporal image correlation" ovvero lo STIC.

Quando si pone un sospetto di anomalia cardiaca possono essere utilizzate diverse modalità di imaging che devono essere di volta in volta scelte a seconda dell'anomalia cardiaca sospettata. Non esiste uno standard unico per le metodologie da utilizzare. È opportuno che l'operatore scelga di volta in volta la tecnica da usare. È bene specificare che un buon esame ecocardiografico può essere fatto anche utilizzando la sola tecnica bidimensionale.

L'uso del doppler pulsato, del color doppler e dell'M-mode sono strumenti importanti ma opzionali che possono essere usati a discrezione dell'operatore.

Al contrario in caso di aritmie cardiache, sospette o accertate, l'uso dell'M-mode e del doppler devono considerarsi obbligatori.

**IB**

Devono essere sempre utilizzate la modalità 2D, il Doppler pulsato e il Color Doppler.

L'ecocardiografia M-mode e l'ultrasonografia Doppler sono obbligatori per l'analisi delle aritmie cardiache fetali.

### *Il trasduttore*

L'utilizzo di trasduttori ad alta frequenza aumenta la probabilità di evidenziare difetti minori, ma riduce la penetrazione acustica. Per tutti gli esami, bisognerebbe dunque utilizzare sonde di frequenza più elevata possibile, tenendo presente tuttavia il compromesso che esiste tra grado di penetrazione degli ultrasuoni e risoluzione dell'immagine.

L'utilizzo dell'armonica può essere utile ad ottenere immagini migliori specialmente in caso di un aumentato spessore della parete addominale materna durante il terzo trimestre di gravidanza<sup>6</sup>.

### *Parametri di rappresentazione dell'immagine*

La scala di grigi resta l'elemento chiave di una valutazione ecografica affidabile del cuore fetale.

L'impostazione della scala dei grigi sull'ecografo dovrebbe prevedere un elevato frame rate ed un aumento del contrasto. Analogamente, bisognerebbe inoltre settare il sistema su di una bassa persistenza d'immagine (analogo al frame rate elevato), utilizzare un'unica zona focale ed un campo di immagine relativamente stretto.

### *Zoom e cine-loop*

Le immagini dovrebbero essere ingrandite in modo tale che il cuore occupi uno spazio compreso tra un terzo e la metà dello



schermo. Ove disponibile, il cine-loop può essere utilizzato per la valutazione dei difetti settali ventricolari e del movimento delle valvole cardiache durante il ciclo cardiaco.

Si raccomanda di utilizzare sonde ad elevata frequenza.

L'esaminatore dovrebbe essere a conoscenza del potenziale impatto di fattori tecnici per l'acquisizione delle immagini migliori del cuore fetale nell'ambito dei vincoli di sicurezza accettabili.

IV

### **Quali sono gli obiettivi principali dell'ecocardiografia fetale?**

Uno degli obiettivi principali dell'ecocardiografia fetale è quello di confermare la presenza o assenza di una patologia cardiaca sospettata all'esame di base del II trimestre o diagnosticare una malformazione cardiaca congenita.

Se una scansione è patologica, l'esaminatore dovrebbe caratterizzare l'anomalia, sviluppare un'accurata diagnosi differenziale dei difetti più probabili ed in particolare individuare feti che richiedono immediato intervento medico o chirurgico dopo la nascita. Particolare attenzione dovrebbe essere rivolta quindi a feti che potrebbero avere patologie caratterizzate dalla dotto-dipendenza.

### **A che epoca gestazionale deve essere eseguito l'ecocardiogramma fetale?**

L'ecocardiografia fetale può essere eseguita in qualsiasi momento durante il secondo trimestre a partire dalla 20 settimana di gestazione, quando le varie parti anatomiche cardiache possono essere visualizzate in maniera soddisfacente.

- a) Una madre che ha un lieve aumento del rischio di feto affetto da cardiopatia congenita - ad esempio 2% contro un background risk dello 0,8% - dovrebbe essere elettivamente sottoposta ad un dettagliato

scan cardiaco tra la 20 e la 24 settimana gestazionale. Queste donne hanno una storia familiare di cardiopatie congenite, diabete materno, esposizione a farmaci teratogeni, e feti che hanno avuto un aumento della translucenza nucale durante il primo trimestre.

- b) Anomalie cardiache fetali possono verificarsi in associazione con anomalie extracardiache e quindi un dettagliato scan cardiaco può essere indicato quando si fa diagnosi di tali anomalie.
- c) Ad una madre che è particolarmente ansiosa a causa di una storia familiare, per esempio la perdita di un figlio precedente, o in cui la misurazione della translucenza nucale sia  $\geq 3.0$  mm, può essere offerto uno scan cardiaco prima della 14 settimana di gestazione, con un follow-up a 20-24 weeks.
- d) Se si sospetta che un feto sia portatore di un'anomalia cardiaca congenita, in qualsiasi scansione, si dovrebbe proporre l'esecuzione dell'ecocardiografia estesa il più presto possibile, indipendentemente dall'età gestazionale.
- e) Altri hanno suggerito di utilizzare un ecocardiogramma fetale come componente della ecografia genetica, per valutare i feti a rischio di cromosomopatie.

Deve assolutamente essere riconosciuto che alcune lesioni cardiache evolvono nel corso del tempo e potrebbero non essere evidenti fino ad un'epoca tardiva (fine III trimestre)<sup>7</sup>. Ogni anomalia cardiaca dovrebbe essere interpretata nel contesto del feto e dovrebbe essere sempre eseguita un'accurata ricerca di possibili associazioni con anomalie extracardiache.

L'esame ecocardiografico fetale dovrebbe essere eseguito a partire dalla 20 settimana di gestazione.

- IB** In casi selezionati può essere offerta uno scan cardiaco intorno alla 14 settimana di gestazione, con un follow-up a 20-24 settimane.

*Quali sono le indicazioni materne all'esecuzione dell'ecocardiografia fetale?*

- Parente di primo grado del feto (Madre o Padre) con cardiopatia congenita;
- Primo figlio con cardiopatia;
- Pre-esistenti malattie metaboliche:
  - a) Diabete di tipo 1;
  - b) Fenilchetonuria;
- Infezioni:
  - a) materne;
  - b) fetali;
- Presenza di Auto Anticorpi:
  - a) Anti-Ro (SSA);
  - b) Anti-La (SSB);
- Esposizione a teratogeni:
  - a) Retinoidi;
  - b) Fenitoina;
  - c) Carbamazepina;
  - d) Carbonato di litio;
  - e) Acido valproico;
  - f) Paroxetina.

*Quali sono le indicazioni fetali all'esecuzione dell'ecocardiografia fetale?*

- Aumento dello spessore della translucenza nucale;
- Anormale onda del dotto venoso;
- Screening cardiaco fetale alterato;
- Anomalie fetali maggiori extracardiache;
- Cariotipo fetale patologico;
- Idrope;
- Effusione pericardica;
- Aritmie cardiache fetali;
- Persistente bradicardia o tachicardia.

Il tasso di rilevamento di anomalie cardiache strutturali è più alto con l'ecocardiografia fetale piuttosto che con l'ecocardio "basic". Alle donne con riconosciuto aumento del rischio di anomalie cardiache fetali dovrebbe essere offerto un più dettagliato scan. I fattori di rischio per anomalie cardiache fetali possono essere classificati come di origine materna o fetale. Le lesioni cardiache acquisite che si manifestano più avanti nella vita, anche quelle di natura genetica, come la sindrome di Marfan e la stenosi ipertrofica subaortica, non sono generalmente rilevabili dall'ecocardiografia eseguita in epoca prenatale.

**IB** L'esame ecocardiografico fetale esteso dovrebbe essere proposto a tutte le donne in gravidanza con indicazioni materne e/o fetali all'esame.

#### *In cosa consiste l'ecocardiografia fetale nel II trimestre?*

Solo operatori sanitari esperti possono valutare il cuore fetale con un elevato grado di accuratezza diagnostica durante una ecografia ostetrica del II trimestre.

L'ecocardiogramma può essere personalizzato, a seconda della natura del sospetto di anomalia cardiaca cui siamo di fronte.

È necessario ed obbligatorio che l'esame approfondito, comprenda lo studio delle quattro camere cardiache, di entrambi gli afflussi arteriosi, dei tre vasi con visualizzazione della trachea, una valutazione del ritorno venoso polmonare e ritorni venosi sistemici<sup>8,2,3</sup>.

E infatti noto che la valutazione degli efflussi può incrementare la detection rate delle principali malformazioni cardiache rispetto a quella ottenuta con la sola scansione delle 4 camere cardiache<sup>9,10</sup>.

L'esaminatore dovrebbe confermare rapporti anatomici e caratteristiche funzionali del flusso attraverso un'analisi sistematica nei seguenti settori:

- asse cardiaco e situs;

- morfologia ventricolare;
- presenza di versamento pericardico di dimensioni superiori a 3 mm;
- connessioni veno-atriali, atrio-ventricolari e ventricolo-arteriose del cuore;
- dimensioni e rapporti tra il tratto di efflusso di sinistra e di destra;
- archi duttale e aortico;
- setto interventricolare;
- setto interatriale, dimensioni delle camere atriali, ed il forame ovale;
- valvole atrioventricolari e semilunari;
- flusso attraverso ogni connessione del cuore, utilizzando il Doppler.

Queste caratteristiche anatomiche sono in genere valutate usando piani di scansione trasversali e sagittali. Tuttavia, l'importante è visualizzare e studiare le strutture in modo soddisfacente.

L'utilizzo del Color Doppler è obbligatorio durante l'esecuzione dell'ecocardiogramma fetale con sospetto di patologia cardiaca.

Anche se il Doppler spettrale non è essenziale, può essere utilizzato per caratterizzare ulteriormente la natura e la gravità di un flusso sospetto<sup>11,5</sup>.

Il Doppler continuo è a volte necessario per quantificare velocità di flusso molto elevate in valvole stenotiche o incompetenti.

- 1) Nella valutazione delle connessioni venose è importante ricordare che non tutte le anomalie dei ritorni venosi sono visualizzabili in utero. È comprensibile pertanto che la diagnosi di alcune anomalie dei ritorni venosi che NON determinano grossolane alterazioni della morfologia ventricolare o atriale NON è possibile prima della nascita. Stesso discorso è da intendersi rivolto alle connessioni atrioventricolari.

- 2) Le dimensioni dei grossi vasi (aorta e polmonare) ed i loro rapporti sono utili ma non totalmente discriminanti per alcune patologie quali ad esempio stenosi lievi o moderate o ancora per quelle anomalie non presenti al momento dell'esame. La finestra aorto-polmonare non può mai essere vista all'esame ecocardiografico fetale.
- 3) L'esame dell'arco aortico per quanto preciso, attento ed eseguito da mani esperte NON può mai escludere la coartazione aortica o le patologie di lieve e moderata entità che interessino l'arco aortico o il tronco polmonare comune.
- 4) I difetti interventricolari di piccola e media entità NON possono essere visti in epoca prenatale.
- 5) Il canale atrioventricolare parziale, tutti i DIA non possono essere né visti né sospettati in utero.
- 6) È necessario escludere le anomalie valvolari importanti. La malattia di Ebstein di grado lieve e moderato non sempre può essere diagnosticata in utero.
- 7) Valgono tutte le considerazioni fatte ai precedenti capitoli.

**IA** L'esame ecocardiografico deve comprendere lo studio delle quattro camere cardiache, di entrambi gli afflussi arteriosi, dei tre vasi con visualizzazione della trachea, una valutazione del ritorno venoso polmonare e dei ritorni venosi sistemici.

**IA** L'utilizzo del Color Doppler è obbligatorio durante l'esecuzione dell'ecocardiogramma fetale con sospetto di patologia cardiaca.

**IA** Il Doppler continuo è a volte necessario per quantificare velocità di flusso molto elevate in valvole stenotiche o incompetenti.

### *Qual è la sensibilità dell'ecocardiografia fetale nel diagnosticare cardiopatie fetali?*

Già nel 1992 R. Achiron aveva pubblicato i suoi dati sull'ecocardiografia extended derivanti dall'analisi di 5.400 feti di gravidanze a basso rischio studiati tra la 18 e la 24 settimane.

La sensibilità per cardiopatie congenite maggiori passava dal 48% con ecocardiografia fetale "basic" al 86% con l'ecocardiografia estesa con una percentuale di falsi negativi del 22%.

Si rammenta, comunque, che tale esame ecocardiografico non può escludere la presenza di quelle cardiopatie congenite che hanno caratteristiche di "evolutività" o che siano troppo piccole per essere evidenziate in utero. Esistono infatti malformazioni del cuore fetale che si vanno via via strutturando durante il corso della gestazione. La diagnosi di anomalie è possibile solo per malformazioni di dimensioni consistenti, con caratteristiche ecografiche ben evidenti e precise, giacché esistono limiti fisici all'esplorazione con gli ultrasuoni dovuti al grado di risoluzione della tecnica strettamente legati all'ecogenicità del soggetto ed alla posizione assunta dal feto al momento dell'esame. Si ribadisce pertanto che molte anomalie cardiache risultano evidenziabili solo dopo la nascita e non possono essere diagnosticate dall'ecocardiografia fetale.

### *Esistono dei fattori che limitano l'esecuzione dell'ecocardiografia fetale?*

Importanti fattori dovrebbero essere considerati come fattori limitanti l'esame ecografico: l'epoca gestazionale, il peso corporeo della donna espresso come B.M.I., la posizione fetale ed il suo movimento nonché l'uso di alcune creme cosmetiche.

### *In che modo eseguire il counselling prenatale?*

Un' accurata diagnosi prenatale è estremamente importante per i professionisti sanitari che saranno portavoce della gravità

della patologia ai genitori, eseguiranno loro un counselling e organizzeranno la gestione clinica del bambino non ancora nato.

Alcuni aspetti del come ottenere le informazioni relative al feto in utero può essere ben oltre la portata di un cardiologo pediatrico qualora operi in modo indipendente dall'ostetrico specialista di imaging.

Ogni anomalia cardiaca dovrebbe essere interpretata nel contesto del feto e dovrebbe essere sempre eseguita un'accurata ricerca di possibili associazioni con anomalie extracardiache.

L'interpretazione di alcune anomalie cardiache può essere impegnativo, e piccole differenze possono sostanzialmente modificare l'approccio chirurgico e la prognosi clinica. La rarità di operatori con capacità diagnostica cardiaca e extracardiaca determina la necessità di un lavoro di squadra che tenti di fornire la più precisa prognosi fetale. Solo una diagnosi differenziale accurata porterà ad un'adeguata consulenza prenatale che consigliamo sia multidisciplinare per genitori in attesa di un feto portatore di cardiopatia.

Ciò dovrebbe includere la collaborazione tra specialisti in cardiologia pediatrica, medicina materno fetale, neonatologi, genetisti, chirurghi cardiotoracici, psicologi.

La consulenza prenatale per genitori in attesa di un feto portatore di cardiopatia dovrebbe essere multidisciplinare.

IV

Deve assolutamente essere riconosciuto che alcune lesioni cardiache evolvono nel corso del tempo e potrebbero non essere evidente fino ad un'epoca tardiva (fine III trimestre).

*Come dovrebbe essere la refertazione di un'ecocardiogramma fetale?*

Attualmente, in Italia, non esiste l'obbligo legale di refertare, registrare e archiviare un'ecocardiogramma fetale.



A tal proposito si deve sottolineare come non esistano certificazioni legali, né enti, né strutture, né organizzazioni, né società scientifiche che abbiano l'autorità e la responsabilità giuridica di rilasciarle.

**Tabella 1. Gradi di raccomandazione SICEF per la corretta valutazione del cuore fetale nell'ecocardiografia estesa**

Componenti dell'ecocardio	Raccomandazione
Anatomia	
Situs, connessioni cardiache	Auspicabile
Biometria	
Cuore normale	Facoltativo
Cuore patologico	Facoltativa secondo anomalia
Ritmo cardiaco (M-modeo doppler spettrale)	
Ritmo normale all'ecografia bidimensionale	Facoltativo
Ritmo anormale all'ecografia bidimensionale	Auspicabile
Funzione cardiaca (ad esempio M-mode o Doppler)	
Normale funzione all'ecografia bidimensionale	Facoltativo
Funzionamento anomalo all'ecografia bidimensionale	Auspicabile a seconda della anomalia
Color doppler	Auspicabile
Power doppler	Facoltativo
Doppler spettrale	
Anatomia cardiaca normale	Facoltativo
Anatomia cardiaca anormale	Auspicabile a seconda della anomalia
Doppler continuo	Facoltativo
Doppler tissutale	Facoltativo
Ecografia in 3D e 4D	Facoltativo

## Bibliografia

1. Yagel S, Arbel R, Anteby EY, et al. The three vessels and trachea view (3VT) in fetal cardiac scanning. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2002; 20: 340–345.
2. Vinals F, Heredia F, Giuliano A. The role of the three vessels and trachea view (3VT) in the diagnosis of congenital heart defects. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; 22: 358–367.
3. Carvalho JS, Ho SY, Shinebourne EA. Sequential segmental analysis in complex fetal cardiac abnormalities: a logical approach to diagnosis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005; 26:105–111.
4. Effect of Maternal Obesity on the Ultrasound Detection of Anomalous Fetuses Jodi S. Dashe, MD, Donald D. McIntire, PhD, and Diane M. Twickler, MD il 28/09/2009 Vol. 113, No. 5, MAY 2009 *Obstetrics & Gynecology*.
5. Chiba Y, Kanzaki T, Kobayashi H, et al. Evaluation of fetal structural heart disease using color flow mapping. *Ultrasound Med Biol* 1990; 16: 221–229.
6. Paladini D, Vassallo M, Tartaglione, et al. The role of tissue harmonic imaging in fetal echocardiography. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004; 23: 159–164.
7. Yagel S, Weissman A, Rotstein Z, et al. Congenital heart defects: natural course and in utero development. *Circulation* 1997; 96: 550–555.
8. Yagel S, Cohen SM, Achiron R. Examination of the fetal heart by five short axis views: A proposed screening method for comprehensive cardiac evaluation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001; 17: 367–369.

9. Bromley B, Estroff JA, Sanders SP, et al. Fetal echocardiography: accuracy and limitations in a population at high and low risk for heart defects. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 166: 1473–1481.
10. Yoo S"J, Lee Y"H, Kim ES, et al. Three"vessel view of the fetal upper mediastinum: an easy means of detecting abnormalities of the ventricular outflow tracts and great arteries during obstetric screening. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1997; 9: 173–182.
11. DeVore GR, Horenstein J, Siassi B, Platt LD. Fetal echocardiography.VII. Doppler color flow mapping: a new technique for the diagnosis of congenital heart disease. *Obstet Gynecol* 1987; 156: 1054–1064.



# LA FLUSSIMETRIA **5** MATERNO-FETALE

Schulman<sup>1</sup> nel 1986 ha descritto, per primo, le modificazioni della morfologia delle arterie uterine in gravidanza. Una riduzione delle resistenze uterine, confermata in seguito da Jurkovic e Juaniaux<sup>2</sup>, con riduzione dell'Indice di Resistenza (RI) e perdita del notch protodiastolico dopo la 20<sup>o</sup> settimana in gravidanze fisiologiche si è ritenuto poter predire un buon esito della gestazione. La maggior parte delle ricerche si è incentrata su un innalzamento nel RI o PI (indice di pulsilità), o la persistenza del notch dell'arteria uterina per rilevare la presenza di aumento della resistenza vascolare utero-placentare. Lo studio FASTER<sup>3</sup>, un studio prospettico su 1.067 gestanti del 2005, ha dimostrato che un valore di RI dell'arteria uterina al di sopra del 75° percentile a 10-14 settimane di gestazione è in grado di prevedere un rischio di 5,5 volte più elevato per il ritardo di crescita intrauterino (IUGR) mentre il notch non ha alcuna relazione significativa. In un analogo studio prospettico poco più numeroso Gomez<sup>4</sup>, invece, utilizzando addirittura il 95° percentile come cut-off, è stato in grado di identificare solo il 30,8% di gravidanze che successivamente avrebbero sviluppato gravi complicanze della gravidanza. Al fine di aumentare la sensibilità e la specificità di questa tecnica Papageorghiou<sup>5</sup> ha combinato l'anamnesi con il Doppler dell'arteria uterina. I risultati mostrano un alto tasso di falsi

positivi (25%) e sono in grado di identificare solo il 67,5% delle donne che avrebbero successivamente sviluppare preeclampsia. Una più recente metanalisi<sup>6</sup> conclude che un PI elevato con il notch ha un valore predittivo poco superiore.

Benché la maggior parte degli studi usi criteri soggettivi per la definizione del notch diastolico, si ritiene classicamente che il calo di velocità, per essere significativo, debba essere di almeno 50 cm/s dalla velocità massima diastolica, quando valutato dopo 20 settimane di gestazione<sup>7</sup>. Per superare i limiti del test alcuni hanno provato ad eseguirlo due volte, a 18 ed a 24 settimane<sup>8</sup>, ma lo studio presenta molti bias metodologici ed i risultati non sono uniformi. Chan<sup>9</sup> ha eseguito uno studio a 20, 28, 36 settimane di gestazione, con un cut-off a 0,58, ricercando la presenza o assenza del notch. Lo studio conclude che la settimana ottimale era la 20<sup>a</sup> ma che non si superava il 57% del valore predittivo positivo per complicazioni severe. Mentre per le complicazioni minori questo saliva al 93%. Ad ogni modo altri studi dimostrano che sebbene in alcuni casi il valore predittivo positivo migliora, la sensibilità è rimasta bassa per ogni complicità (21%) e per quelle severe sale pochissimo (27%).

In sintesi, attualmente non ci sono standard soddisfacenti e, di seguito, si riassumono le caratteristiche più condivise sulla metodologia del test. L'età gestazionale di scelta sembra la 20<sup>a</sup> settimana, benché è ragionevole ritenere che ripetere l'esame a 24 migliori il valore predittivo<sup>10</sup>. Chan et al.<sup>9</sup> hanno mostrato poca differenza tra l'utilizzo di un RI >0,58 o superiore al 95<sup>o</sup> percentile, ed entrambi sono stati più efficaci nel predire un esito negativo se combinati con la presenza del notch. L'incisura del notch deve essere di almeno 50 cm/s dalla velocità massima diastolica. Recenti studi mostrano qualche utilità nella valutazione del flusso dell'arteria uterina nel primo trimestre. Tuttavia, il secondo trimestre ha dato risultati più costanti.

## Screening nella popolazione a basso rischio

Da molti anni è dimostrata una associazione tra un anormale profilo veloci metrico dell'arteria uterina e complicanze in gravidanza. Per le donne con test anormale nel primo trimestre, il likelihood ratio (LR) per lo sviluppo di preeclampsia è di circa 5, mentre quelli con normali studi Doppler hanno un LR del 0.5<sup>11</sup>. Un test anomalo porta ad un incremento di 2 del likelihood ratio per un IUGR mentre un test normale eleva comunque l'LR di 0.9.

Tuttavia, Antsaklis<sup>12</sup> ha comunque dimostrato che la sensibilità e la specificità di screening per la preeclampsia siano 81% e 87% a 20 settimane, e 76% e 95% a 24 settimane di gestazione.

Numerosi studi hanno valutato i potenziali benefici di diversi interventi terapeutici per le gravide con anomalie del tracciato doppler delle arterie uterine. Uno dei più grandi, coordinato da Goffinet<sup>13</sup>, è stato un trial multicentrico di 3.317 gravide a basso rischio con un Doppler dell'arteria uterina anormale tra le settimane 20 e 24 di gestazione che vennero trattate con aspirina da 150 mg al giorno fino a 36 settimane di gestazione. Nessun risultato protettivo o differenza si è rilevato nei gruppi randomizzati. Questi risultati sono stati confermati da uno studio successivo su 560 donne con doppler dell'arteria uterina anormale a 22 a 24 settimane di gestazione e che sono stati randomizzati a ricevere aspirina 150mg/die o placebo fino a 36 settimane di gestazione<sup>14</sup>.

Anche in questo caso, non si è osservata nessuna differenza nell'incidenza di preeclampsia (18% vs 19%,  $P = 0,6$ ), peso alla nascita al di sotto del quinto percentile (22% vs 24%,  $P = 0,4$ ), morte perinatale (3% vs 1%; distacco  $P = 0,33$ ) o placentare (4% versus 2%,  $P = 0,12$ ). In uno studio recentemente pubblicato sulle prospettive della terapia antiossidante per la prevenzione della preeclampsia, non si è altresì trovato beneficio da 1.000 mg di vitamina C e 400 UI di vitamina E somministrata giornalmente nelle donne a rischio per preeclampsia (24% vs 25%, rischio relativo [RR], 0.95, 95% CI, 0,40-2,29;)<sup>15</sup>.

La più grande revisione sistematica della letteratura sulla reale utilità della valutazione Doppler dell'arteria uterina è stato pubblicato da Chien e colleghi nel 2000<sup>16</sup>. Solo ventotto studi hanno rispettato i rigidi criteri di inclusione, su un totale di 12.994 pazienti. L'analisi degli studi riguardanti le popolazioni a basso rischio ha rivelato che, per la preeclampsia, un test positivo presenta un LR di 6.4 (95% intervallo di confidenza tra 5,7-7,1), e un risultato negativo un LR di 0,7 (95% CI 0,6-0,8). Per l'IUGR un test positivo ha avuto un LR di 3,6 (CI 95% 3,2-4,0) e un risultato negativo di 0,8 (95% CI, 0,8-0,9). Risultati per la predizione di morte perinatale sono stati ancora meno chiari con un LR di 1,8 (CI 95% 1,2-2,9) per un risultato positivo del test, e 0,9 (CI 95% 0,8-1,1) per un risultato negativo. Più recenti metanalisi già citate hanno trovato un LR positivo per preeclampsia lieve di 7,5 (CI 95%: 5,4-10,2) e un LR negativo di 0,59 (95% CI, 0,47-0,71), e per preeclampsia grave un LR positivo di 15,6 (CI 95%, 13,3-17,3) e un LR negativo dello 0,4 (95% CI, 0,2-0,6). Inoltre, per l'IUGR, si dimostra un LR positivo di 9,1 (CI 95%: 5,0-16,7) e un LR negativo di 0,89 (95% CI, 0,85-0,93).

IIA

Il valore predittivo del Doppler materno in una popolazione a basso rischio è basso. Fino a quando non saranno disponibili test più efficaci, lo studio doppler routinario delle arterie uterine nei soggetti a basso rischio non è raccomandato.

IA

Non ci sono interventi per prevenire gli esiti negativi sulla base di un risultato anormale del doppler delle arterie uterine. Nessuna terapia si è dimostrata utile per prevenire le complicanze. Fino a quando non saranno disponibili terapie valide, nessun trattamento terapeutico dovrebbe essere somministrato sulla base di un riscontro di arteria uterina anomala.

## Utilizzo nella popolazione ad alto rischio

### *Analisi della letteratura.*

Sulla base del principio che, limitando l'utilizzo del doppler delle arterie uterine, nella popolazione ad alto rischio, si sarebbe



migliorato il valore predittivo del test, molti studi hanno preso in considerazione l'opportunità di restringerne il campo d'utilizzo. La metanalisi di al Chien<sup>16</sup> ha mostrato un aumento della probabilità predittiva dal 9,8 -23% per la preeclampsia. Risultati simili sono stati ottenuti per la previsione dell'IUGR, con un LR di 2,7 (95% CI, 2,1-3,4), con la predittività che cresce dal 17,8 al 36,7%, con un test positivo. Anche per la morte perinatale LR, dopo un test anormale, era di 4,0 (CI 95% 2,4-6,6), con un incremento della predittività positiva dal 8,9 al 27,8%. In una recente review, una metanalisi sul doppler materno in gravide ad alto rischio<sup>17</sup> 83 studi con circa 18.000 donne, la presenza di notch depone per un LR positivo di 20,2 (CI 95%: 7,5-29,5) e negativo di 0,17 (95% CI, 0,03-0,56) per la predittività di preeclampsia. Nella stessa analisi, nelle donne con un RI >0,58, si ha un LR positivo del 10,9 (95% CI, 10,4-11,4) e negativo LR di 0,20 (95% CI, 10,4-11,4) per l'IUGR. In nessun caso è stato trovato un tipo di strategia o terapia efficace per evitare le complicazioni. Axt-Fliedner<sup>18</sup> specula sulla possibilità di utilizzare il test negativo come test "rassicurante" con valore predittivo negativo elevato al 93-97% per le donne con un normale RI e la mancanza di notch. Studi successivi hanno confermato tale ipotesi<sup>19</sup>. Altri studi ancora, anche se datati e di limitata casistica confermano il valore predittivo negativo ma mettono in evidenza come solo nel 19% dei casi di doppler anormale, in gravide con ipertensione preesistente, si sviluppi preeclampsia<sup>20</sup>.

Il Doppler dell'arteria uterina nelle gravidanze ad alto rischio sembra identificare con una discreta predittività i soggetti a rischio per preeclampsia. Il test anormale in queste donne potrebbe portare a una maggiore sorveglianza, ma non ad interventi specifici che possano migliorare i risultati clinici al di fuori dei trattamenti previsti dallo stato di patologia di base. Il doppler negativo potrebbe potenzialmente portare ad una riduzione dei test e tali interventi. Tuttavia, sono necessari ulteriori studi per determinare le condizioni ad alto rischio sono suscettibili di tale screening.

IIIC

Al momento, le prove non supportano l'uso routinario dello screening poiché mancano le norme per la tecnica di studio, età gestazionale, e criteri per i test anomali. Gli studi Doppler dell'arteria uterina non dovrebbero essere considerate una pratica valida per l'assistenza medica anche in popolazioni a rischio alto.

### *La Flussimetria fetale*

Il ruolo della velocimetria Doppler, nella gestione del ritardo di crescita e della sofferenza fetale cronica è unico perché è utilizzabile sia come strumento diagnostico che di sorveglianza. I tracciati possono essere ottenuti sia dal letto vascolare arterioso che venoso del feto. Il doppler arterioso fornisce informazioni sulla resistenza vascolare a valle, che può essere alterata a causa di cambiamenti strutturali o modifiche del tono vascolare. Il rapporto tra pressione sistolica/diastolica (S/D), l'indice di resistenza (RI), e l'indice di pulsatilità (PI) sono i tre indici Doppler più utilizzati per analizzare la resistenza vasale arteriosa. Un aumento della resistenza al flusso di sangue si manifesta con una relativa diminuzione della velocità telediastolica con conseguente aumento in tutti e tre gli indici Doppler. Di questi indici, l'indice di pulsatilità è quello più utilizzato perché minimizza l'errore di campionamento soggettivo. Nella valutazione diagnostica dell'IUGR, lo studio dell'arteria ombelicale e della cerebrale media rappresentano i distretti più importanti. Studi randomizzati e meta-analisi confermano che l'uso combinato di biometria fetale e Doppler dell'arteria ombelicale riducono significativamente la mortalità perinatale e differenziano gli IUGR dai piccoli costituzionali (SGA)<sup>21-23</sup>.

L'analisi della circolazione fetale permette di correlare la resistenza dei vasi nel distretto centrale (cerebrale media) e periferico (ombelicale) al fine di riconoscere le fasi del compenso ipossico chiamate *brain sparing* (o centralizzazione del circolo). Questo fenomeno si palesa quando le resistenze vascolari a livello cerebrale divengono inferiori a quelle ombelicali. Vi è

unanime accordo nel concludere che la centralizzazione del circolo rappresenta un fenomeno di adattamento all'ipossia, finalizzato a salvare cuore e cervello quindi non denuncia, di per se stesso, una sofferenza con danno fetale<sup>24-27</sup>.

La scomparsa del flusso diastolico nelle arterie ombelicali e nell'aorta (detto ARED o Absent/Reverse end diastolic flow), eventi che seguono la centralizzazione del circolo, rappresentano una condizione in cui il feto sta modificando profondamente la propria emodinamica in conseguenza di una ipossia cronica severa e di un incipiente scompenso. Anche in tale situazione vi è unanime accordo per definire il quadro di severità per il feto e di non procrastinare il parto se le condizioni di raggiunta maturità lo consentono<sup>28-30</sup>. Molti studi, infatti, hanno posto l'accento sull'età gestazionale del parto oltre le 32 settimane come fattore prognostico molto importante, anche nei feti IUGR ed ARED per ottenere una riduzione non solo della mortalità ma, soprattutto, per ridurre la morbilità<sup>31,32</sup>. Bachat, sulla base di una accurata metanalisi di studi randomizzati conclude sull'importanza, ove possibile, di ritardare il parto se le condizioni lo consentono. Infatti, anche se, grazie alle migliorate tecniche di rianimazione, rimandare il parto oltre la 34<sup>o</sup> settimana non cambia sostanzialmente gli esiti a breve termine, questo invece produce una tendenza verso un miglioramento dello sviluppo neurologico nella prima infanzia<sup>33</sup>.

Il momento del parto deve tener conto, pertanto, oltre che dell'aspetto flussimetrico, di quello biometrico, del peso fetale, dell'età gestazionale, di altri parametri Doppler (come il flusso nel dotto venoso) e di altre valutazioni di salute del feto, come le sue anomalie e, infine, del profilo biofisico e cardiocografico.

La più recente introduzione dello studio dei flussi venosi, ed in particolare nel dotto di Aranzio<sup>34</sup>, ha aperto una nuova frontiera nell'analisi dello stato di sofferenza fetale legata alle fasi più severe o tardive dell'ipossia che determinano

lo scompenso e quindi la morte fetale e che ha importanti ricadute sul timing del parto<sup>32,35</sup>. Come è noto, nel dotto venoso l'andamento della curva velocimetrica è trifasica (Onda S, D, a). La prima (onda "S") raggiunge la massima velocità ed esprime la vis a tergo della sistole ventricolare. La seconda onda denominata onda "D", mostra la velocità del sangue che entra nel ventricolo quando si apre la valvola tricuspide nella proto diastole ventricolare. La terza onda, detta onda "a", rappresenta il "nadir", la velocità minore del flusso ematico nel distretto venoso e corrisponde alla sistole atriale. NB: durante la contrazione atriale il flusso destro-sinistro si interrompe e quindi la contrazione, in considerazione dell'assenza di valvole tra la cava e l'atrio, tende a rallentare nel torrente venoso o, addirittura, prossimalmente nelle cave, ad invertirsi. Nel dotto venoso invece tutte e tre le onde mostrano un flusso sempre positivo. Nelle fase più severa della restrizione di crescita, quando l'ipossia determina una condizione di incipiente scompenso ventricolare, la onda "a" tende ad arrestarsi, fino ad invertirsi. Questo dimostra che il ventricolo presenta una riduzione della forza contrattile ed un residuo after-load che, nella contrazione atriale, inverte completamente la direzione del flusso<sup>36</sup>. L'assenza o il reverse del flusso in dotto venoso dimostra che il feto, dalla ipossia cronica, sta passando rapidamente all'acidosi puruvicolattica. Dimostrazioni sperimentali con metodi invasivi hanno dimostrato che le decelerazioni tardive al tracciato cardiocografico, si osservano passandosi da una condizione di ipossia all'acidosi<sup>37</sup>. Studi comparativi hanno messo in evidenza che nei feti ARED compromessi si realizzano le modificazioni cardiocografiche dell'acidosi<sup>38</sup>.

### *Doppler delle arterie ombelicali*

L'esame del doppler del funicolo viene in genere eseguito ad alcuni centimetri dall'inserzione placentare. Si devono esaminare almeno tre cicli di pulsatilità e la media di più osservazioni è

consigliata nei casi dubbi. L'epoca alla quale si esegue varia in tutto il terzo trimestre di gravidanza e si deve far riferimento, per la sua valutazione, alle curve di normalità accreditate ed aggiornate sulla popolazione più "affine" per etnia e fattori socio ambientali. Un danno vascolare che colpisce circa il 30% della placenta produce aumenti dell'indice Doppler ma per determinare un'assenza del flusso diastolico si deve arrivare ad una compromissione molto più severa, fino al 70%<sup>39</sup>.

## Screening nella popolazione a basso rischio

### *Analisi della letteratura.*

Le linee-guida dell'American College<sup>40</sup> e del Royal College<sup>41</sup>, sulla base della letteratura non più recente, negli anni passati hanno chiaramente dichiarato che l'esame doppler delle arterie ombelicali non può essere utilizzato come metodo di screening per l'individuazione dell'IUGR. In effetti, molti studi randomizzati e metanalisi non dimostrano una reale utilità del doppler delle arterie ombelicali nelle gravidanze a basso rischio<sup>42,43</sup>. Anche secondo le review sistematiche Cochrane del 2000<sup>44</sup> e del 2007<sup>45</sup> il doppler dell'arteria ombelicale, in popolazione non selezionata, non presenta nessuna utilità. Recentemente queste due review sistematiche sono state cancellate (withdrawn) a causa del fatto che la metodologia e le fonti dalle quali si erano tratte queste conclusioni presentavano numerosi bias. La Cochrane stessa, pertanto, nel 2010<sup>46</sup> si chiede perché il doppler ombelicale, che innegabilmente aiuta a identificare il feto compromesso, non potrebbe essere utilizzato come test di screening nelle gravidanze "a basso rischio". Benché le conclusioni non siano ancora a favore dell'utilizzo esteso e randomizzato queste però aprono a tale possibilità dichiarando che "studi futuri dovrebbero essere progettati per comprendere anche piccole alterazioni che possono modificare gli esiti perinatali".

Il Doppler dell'arteria ombelicale nelle gravidanze a basso rischio non presenta ancora una sua dimostrata utilità.

- IVC** Il suo uso comunque non aumenta il rischio di interventi inutili o iatrogeni.
- IVC** D'altra parte il doppler dovrebbe essere impiegato ogni volta che vi sia una riduzione della crescita fetale.

## Utilizzo nella popolazione ad alto rischio

### *Analisi della letteratura.*

L'efficacia degli studi di Doppler dell'arteria ombelicale come tecnica di sorveglianza fetale è stata, in passato, riassunta in un editoriale di Divon e Ferber, in cui sono stati esaminati i risultati di diversi meta-analisi<sup>47</sup>. Una meta-analisi di Giles e Bisit di sei studi randomizzati, hanno mostrato una riduzione della mortalità perinatale in 2.102 feti studiati con Doppler rispetto ai 2.133 feti non valutati con questa tecnica<sup>48</sup>. Anche Alferievich, in un'analisi di 12 studi clinici randomizzati controllati in 7.474 pazienti ad alto rischio ha evidenziato, nelle gravidanze ad alto rischio monitorati con velocimetria Doppler, un minor numero di ricoveri prenatale, induzioni di parto programmato, parti cesarei per sofferenza fetale, e mortalità perinatale<sup>49</sup>. Molto più recentemente una metanalisi Cochrane conferma l'utilità del doppler e della arteria ombelicale nelle gravidanze ad alto rischio<sup>50</sup>.

- IVC** Il Doppler dell'arteria ombelicale nelle gravidanze con ritardo di crescita è indicato in ogni caso si sospetti un ritardo di crescita o una insufficienza placentare.

Allorché il tracciato doppler dimostri la scomparsa dell'onda diastolica in una età gestazionale troppo precoce (< 32 settimane) questo, in presenza di conservato flusso anterogrado nel dotto venoso, è un'indicazione per una maggiore sorveglianza fetale, ma non necessariamente per un parto immediato<sup>51,52</sup>.

Tuttavia, dopo le 34 settimane secondo Bachat i feti ARED, anche in presenza di un flusso ancora anterogrado in dotto venoso, dovrebbero nascere il più presto possibile. Secondo altri studi comparativi, in presenza di una condizione ARED, la nascita sarebbe comunque indicata già a 32 settimane<sup>53</sup>. La differenza di orientamento potrebbe anche riflettere e rispettare i fattori contingenti e le potenzialità specifiche dei dipartimenti dove queste casistiche vengono valutate. In ogni caso, le maggiori linee guida internazionali, indicano la necessità, nei feti ARED di indurre la maturazione polmonare<sup>54</sup>.

In caso di assenza/reverse di flusso in arteria ombelicale (con flusso ancora anterogrado in dotto venoso) il parto immediato è indicato solo dopo le 34 settimane di gravidanza. È indicata la maturazione polmonare con glucocorticoidi.

IIB

### **Doppler delle arterie cerebrali**

Gli stessi fattori che influenzano il doppler dell'arteria ombelicale possono modificare l'arteria cerebrale media ed il circolo cerebrale in genere. In tale distretto i fattori "locali" conseguenti all'ipossia riducono le resistenze per aumentare il flusso ematico e migliorare l'apporto di ossigeno<sup>55</sup>.

Questo fenomeno, detto brain sparing<sup>56,57</sup> si rileva con relativa facilità all'esame doppler prenatale quando l'indice di resistenza dell'arteria ombelicale (in genere più basso) supera quello delle cerebrali medie che divengono più dilatate.

Si deve tenere presente che il rapporto tra gli indici di pulsatilità della cerebrale media e dell'arteria ombelicale si modifica fisiologicamente presso il termine della gravidanza in relazione ad una moderata riduzione delle resistenze centrali ed uno stabilizzarsi di quelle ombelicali. Il rapporto però non si inverte<sup>58</sup>.

Non ci sono prove che lo studio isolato (senza il rapporto tra i PI dell'arteria cerebrale media/arteria ombelicale) offra alcun beneficio all'esplorazione doppler del feto<sup>51</sup>. È invece riconosciuto che l'analisi velocimetrica dell'Arteria Cerebrale è strettamente correlata con l'emoglobina fetale (maggiore velocità minore emoglobinemia). Lo studio della sua velocità, pertanto, è un eccellente metodo non invasivo per stabilire il grado di anemia fetale<sup>59-62</sup>.

Benchè alcuni studi hanno messo in evidenza che il "brain sparing" possa essere associato a sequelae a lungo termine, in realtà il fenomeno della redistribuzione del flusso sanguigno a favore del cervello fetale può essere ritenuto un meccanismo di compenso privo di effetti. I feti IUGR con un aumento delle resistenze in arteria ombelicale e centralizzazione del circolo (ma con presenza di flusso telediastolico e normali flussi venosi) vengono in genere ritenuti più o meno ipossiemici a seconda dell'entità e della durata dei parametri doppler registrati, ma certamente il loro pH è ancora normale<sup>63,64</sup>. Certamente il persistere dell'ipossia può condurre ad un deterioramento della condizione locale con scomparsa della fisiologica variabilità vascolare cerebrale (vasocostrizione e vasodilatazione), seguito da un aumento della resistenza vascolare cerebrale<sup>65</sup> con danni locali fino all'emorragia o all'encefalopatia ipossico-ischemica.

**IA**

Il doppler dell'arteria cerebrale media va utilizzato nei feti IUGR per il monitoraggio dell'ipossia fetale, ed esclusivamente in relazione all'arteria ombelicale (rapporto cerebrale/ombelicale).

**IIB**

Il doppler dell'arteria cerebrale media, se studiato isolatamente, presenta utilità solo nella valutazione dell'anemia fetale.



Il fenomeno del “brain sparing”, al suo inizio, rappresenta una fase di “compenso” ed è la prima manifestazione doppler che dimostra una ipossia fetale nei feti IUGR. In presenza di flusso diastolico in arteria ombelicale non è indicata anticipazione del parto.

### **Doppler del dotto venoso.**

L'introduzione dello studio dei flussi nel dotto di Aranzio<sup>34</sup>, ha aperto una nuova frontiera nell'analisi dello stato di sofferenza fetale legata alle fasi più severe o tardive dell'ipossia (e dell'acidosi) che determinano lo scompenso e quindi la morte fetale. La conoscenza di questi fenomeni ha permesso di usufruire di una informazione “critica” che pone indicazioni precise per stabilire, nei feti IUGR, il momento del parto<sup>32,35</sup>. Secondo alcuni studi mentre i feti IUGR con assenza del flusso in arteria ombelicale (ARED) ma con flusso ancora normale nel dotto venoso presentano un rischio di mortalità postnatale, quelli nei quali il flusso in dotto venoso è negativo presentano un rischio sensibilmente maggiore di morte intrauterina. La presenza di un flusso retrogrado in dotto venoso rappresenterebbe un rischio di morte in utero entro una settimana<sup>66</sup>. Vi è piuttosto ampio consenso nel ritenere un flusso patologico in dotto venoso un indicatore indipendente di acidosi e deve essere valutato solo in quelli IUGR dove il flusso in Arteria Ombelicale tende a negativizzarsi o è già reverse<sup>67</sup>. Queste osservazioni sembrano affidare al doppler del dotto venoso una importanza strategica assoluta. Purtroppo però mancano studi randomizzati e Haws, molto recentemente, segnala come da una accurata analisi della letteratura, compresi gli studi sulla Cochrane Library, pur avendo identificato 221 rilevanti reviews ancora non vi è la dimostrazione completa di quale test sia il più predittivo di morte fetale e entro quali limiti temporali possa agire<sup>68</sup>.

Per quanto riguarda l'epoca del parto vi è consenso nel cercare di raggiungere, se possibile, le 32 settimane<sup>30-32</sup> ma l'assenza di flusso nel dotto venoso imporrebbe di anticipare il parto ad ogni

età gestazionale ove vi siano garanzie di sopravvivenza superiori a quelle limitate intrauterine<sup>69</sup>. Recentemente però una accurata revue di Hoffman rileva che ancora non si può parlare di un preciso algoritmo secondo il quale l'assenza di flusso nel dotto venoso sarebbe indicativo sempre di un rapido decadimento delle condizioni fetali fino alla morte in utero. Nell'analisi della letteratura emergono alcuni studi che potrebbero indicare, in taluni casi, l'esistenza di un periodo variabile nel quale le condizioni fetali, prima di precipitare, attraverserebbero una fase di plateau che potrebbe permettere di differire il momento del parto<sup>70</sup>.

IIB

Nei feti IUGR con assenza del flusso in arteria ombelicale (ARED), la comparsa di una onda negativa o reverse nel dotto venoso, prima delle 32 settimane, indica la necessità di espletare il parto nel più breve tempo possibile. Ovvero allorché le condizioni assistenziali contingenti possano offrire le migliori garanzie di sopravvivenza di quelle esistenti in utero.

Inviare le gestanti in centri di livello adeguato e con TIN.

IA

Nei feti IUGR con assenza del flusso in arteria ombelicale (ARED), la comparsa di una onda negativa o reverse nel dotto venoso, dopo le 32 settimane, indica la necessità di espletare il parto.

## Il profilo biofisico fetale

L'utilizzo dell'ecografia in tempo reale, associato all'esame cardiocografico non stress test, ha consentito di eseguire un'analisi completa delle condizioni del feto in utero e del suo stato di salute.

Come sottolineato da Manning nel 1985 "il monitoraggio biofisico fetale si basa sul principio che più è completo l'esame del feto, delle sue attività, e del suo ambiente, e più accurata può essere l'esame sul suo stato di salute"<sup>71</sup>.

Per studiare il benessere, pertanto, sono stati presi in considerazione diversi parametri<sup>72</sup>.

Il punteggio del Profilo Biofisico ricalca quello dell'APGAR. Ad esempio, la presenza di un parametro normale, come un NST reattivo, vale 2 punti, mentre l'assenza di tale parametro è 0. Il punteggio più alto è 10, e il punteggio più basso è 0. Il BPP può essere somministrato fin dalle 26-28 settimane di gestazione<sup>73-75</sup>.

### Tecnica di score del Profilo biofisico fetale

Variabile biofisica	Normale (Score = 2)	Anormale (Score = 0)
Movimenti respiratori fetali	Almeno un episodio >30 secondi di durata in 30 minuti di osservazione	Assenza di un episodio >30 secondi di durata in 30 minuti di osservazione
Movimenti grossolani del corpo	Almeno 3 discreti movimenti (o periodi di movimento) del corpo o delle braccia in 30 minuti di osservazione	Meno di 3 movimenti (o periodi di movimento) del corpo o delle braccia in 30 minuti di osservazione
Tono fetale	Almeno un episodio di estensione e flessione attiva degli arti o aperture o chiusura della mano.	No episodio di estensione e flessione attiva degli arti o aperture o chiusura della mano.
NST con Tracciato reattivo	Almeno due episodi di accelerazione (>15 bpm della durata di 15 secondi) associati a movimenti fetali in 30 minuti di osservazione	Meno di due accelerazione (>15 bpm della durata di 15 secondi) associati a movimenti fetali in 30 minuti di osservazione
Quantità di liquido amniotico	Almeno una tasca di liquido amniotico di misura di 2 cm	Neanche una tasca di liquido amniotico di misura di 2 cm

IIB

Da Manning 2002<sup>72</sup>

## Tabella di interpretazione del punteggio<sup>75, 76</sup>

### Management basato sul Profilo Biofisico

Score	Interpretazione	Management
10	Feto normale.	Ripeti il test settimanalmente. Ripeti il test due volta a settimana in pazienti diabetiche, e dopo la 41° settimana
8	Feto normale. Basso rischio di ipossia cronica	Ripeti il test settimanalmente. Ripeti il test due volta a settimana in pazienti diabetiche, e dopo la 41° settimana; oligoidramnios è indicazione all'espletamento del parto.
6	Sospetto di ipossia cronica	Se si è a 36 settimane o oltre vi è l'indicazione all'espletamento del parto. Se < 36 settimane e le condizioni sono favorevoli il parto va indotto. Se si è >36 settimane ed il rapporto L/S <2.0, ripetere il test in 4-6 ore; parto indicato se vi è oligoidramnios
4	Discreto sospetto di ipossia cronica	Se 36 settimane o oltre il parto è indicato. Se <32 settimane ripetere lo score.
0-2	Forte sospetto di ipossia cronica	Estendere il test a 120 minuti. Se persiste uno score ≤4, il parto è indicato indipendentemente dall'età gestazionale

*Da Manning<sup>75</sup>*

Molte critiche sono state mosse a tale metodologia di indagine. I movimenti respiratori, ad esempio, sono presenti con maggior evidenza durante il sonno REM e la loro assenza può anche indicare solamente che il feto è in un periodo di sonno tranquillo<sup>77,78</sup>.

Molti fattori diversi dall'ipossia fetale possono influenzare anche i movimenti fetali.

Il profilo biofisico risentiva delle limitazioni di una epoca in cui ancora poco si conosceva sui rischi di indurre il parto anche intorno alle 36 settimane<sup>79</sup>. In quei tempi era molto in uso il

dosaggio del rapporto Lecitine/sfingomieline come unico test al quale affidarsi per garantire il benessere del neonato. Ancor meno si conosceva delle potenzialità della flussimetria fetale nello stabilire il vero rischio di morte in utero e di sofferenza ipossica.

Un'altra importante limitazione derivava dal fatto, dimostrato già negli anni, che il Profilo Biofisico fetale e il NST rappresentano test indipendenti ed entrambi validi per dimostrare una sofferenza fetale<sup>80</sup>. Rimane quindi dimostrato, da trial comparativi, che ognuno dei due è variabile indipendente nel diagnosticare una sofferenza fetale.

I trial esaminati, fin dal 2000, dimostrarono che il profilo biofisico fetale non si era di fatto rivelato efficace nella gestione diagnostica e clinica delle gravidanze ad alto rischio<sup>81</sup>. Ancora recentemente, l'esame di 5 trial (Cochrane Pregnancy and Childbirth Group's Trials Register, Ottobre 2007; CENTRAL The Cochrane Library 2006, Issue 4; MEDLINE dal 1966 al 2006; EMBASE 1974 al 2006 e CINAHL 1980 al November 2006) dimostra che allo stato attuale delle cose non vi è nessuna sufficiente prova che il profilo biofisico fetale sia un test di monitoraggio valido per monitorizzare il benessere fetale nelle gravidanze ad alto rischio<sup>82</sup>.

L'esame biofisico fetale non ha indicazione nella sorveglianza delle gravidanze ad alto rischio.

IA

### **Correlazione tra l'esame flussimetrico fetale ed il non stress test**

Uno studio cross-sezionale su 161 pazienti con gravidanze ad alto rischio, tra il non stress test (NST) e il rapporto ombelicale/cerebrale media (brain sparing) ha mostrato, per il NST una sensibilità e specificità minori nella diagnosi di sofferenza fetale e morte perinatale<sup>83</sup>. Uno studio cinese mostra al contrario

una migliore accuratezza per il NST<sup>84</sup>. Uno studio italiano, comprendente la valutazione dei flussi venosi rileva che il NST ha minori potenzialità dell'esame doppler completo nella diagnosi di sofferenza fetale e rischio di morte in utero<sup>85</sup>.

In attesa dei risultati di trial specifici (TRUFFLE Study) non è ancora chiaro, in termini di raccomandazione assoluta se i feti con ritardo di crescita debbano essere fatti nascere in base alle indicazioni flussimetriche (ARED/dot to venoso) ovvero sulla base del NST non reattivo<sup>86</sup>.

Rimane però importante ribadire come tutte le revue della letteratura su casistiche diverse quali studi retrospettivi fino a trial clinici controllati che le due metodiche (flussimetria e cardiocografia) presentano competenze diverse nella valutazione del benessere fetale<sup>87-90</sup>. La flussimetria studia l'andamento e la progressione dell'ipossia cronica, dalle prime fasi del compenso fino allo scompenso. La cardiocografia trova la sua massima indicazione nella sorveglianza dell'acidosi e del danno acuto. In tal senso le due metodiche devono essere considerate variabili indipendenti nella diagnosi di sofferenza fetale<sup>80</sup>.

La flussimetria può sottostimare una acidosi con decelerazioni tardive. Un NST può non rilevare una ipossia cronica. Non è ancora noto a quale dei due test si debba fare riferimento per decidere il momento in cui il parto va espletato negli IUGR severi.

Benchè qualche studio metta in luce nuove potenzialità dell'analisi cardiocografica computerizzata, mancano ancora trial randomizzati per la comparazione di questa nuova metodica con la flussimetria<sup>91</sup>.

Allo stato attuale della conoscenza l'esame doppler e la cardiotocografia debbono essere ancora considerati esami indipendenti nella diagnosi di sofferenza fetale. La prima monitorizza l'ipossia cronica, la seconda allerta sulla asfissia acuta.

IA

## Bibliografia

1. Schulman H, Fleischer A, Farmakides G, et al. Development of uterine artery compliance in pregnancy as detected by Doppler ultrasound. *Am J Obstet Gynecol.* 1986;155:1031–1036
2. Jurkovic D, Jauniaux E, Kurjak A, et al. Transvaginal color Doppler assessment of the uteroplacental circulation in early pregnancy. *Obstet Gynecol.* 1991;77:365–369.
3. Dugoff L, Lynch AM, Cioffi-Ragan D, et al. FASTER Trial Research Consortium First trimester uterine artery Doppler abnormalities predict subsequent intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;193(3 Pt 2):1208–1212.
4. Gomez O, Martinez JM, Figueras F, et al. Uterine artery Doppler at 11-14 weeks of gestation to screen for hypertensive disorders and associated complications in an unselected population. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2005;26:490–494.
5. Papageorghiou AT, Yu CK, Erasmus IE, et al. Assessment of risk for the development of pre-eclampsia by maternal characteristics and uterine artery Doppler. *BJOG.* 2005;112:703–709.
6. Cnossen J, Morris R, Riet G, et al. Use of uterine artery Doppler ultrasonography to predict pre-eclampsia and intrauterine growth restriction: a systematic review and bivariable meta-analysis. *CMAJ.* 2008;178:701–711.
7. Campbell S, Bewley S, Cohen-Overbrook T. Investigation of the uteroplacental circulation by Doppler ultrasound. *Semin Perinatol.* 1987;11:362–368.



8. Bower S, Bewley S, Campbell S. Improved prediction of preeclampsia by two-stage screening of uterine arteries using the early diastolic notch and color Doppler imaging. *Obstet Gynecol.* 1993;82:78–83.
9. Chan FY, Pun TC, Lam C, et al. Pregnancy screening by uterine artery Doppler velocimetry—which criterion performs best?. *Obstet Gynecol.* 1995;85:596–602.
10. Lees C. Uterine artery Doppler: time to establish the ground rules. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2000;16:607–609.
11. Papageorghiou AT, Yu CK, Nicolaides KH. The role of uterine artery Doppler in predicting adverse pregnancy outcome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2004;18:383–396.
12. Antsaklis A, Daskalakis G, Tzortzis E, Michalas S. The effect of gestational age and placental location on the prediction of preeclampsia by uterine artery Doppler velocimetry in low-risk nulliparous woman. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2000;16:635–639.
13. Goffinet F, Aboulker D, Paris-Llado J, et al. Screening with a uterine Doppler in low risk pregnant women followed by low dose aspirin in women with abnormal results; a multicenter randomized controlled trial. *BJOG.* 2001;108:510–518.
14. Yu CK, Papageorghiou AT, Parra M, et al. Fetal Medicine Foundation Second Trimester Screening Group. Randomized control trial using low-dose aspirin in the prevention of preeclampsia in women with abnormal uterine artery Doppler at 23 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2003;22:233–239.

15. Papageorghiou AT, Yu CK, Nicolaides KH. The role of uterine artery Doppler in predicting adverse pregnancy outcome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2004;18:383–396.
16. Chien PF, Arnott N, Gordon A, et al. How useful is uterine artery Doppler flow velocimetry in the prediction of preeclampsia, intrauterine growth retardation and perinatal death? (An overview). *BJOG.* 2000;107:196–208.
17. Antony C. Sciscione, Edward J. Haves *American Journal of Obstetrics & Gynecology* volume 201, Issue 2, Pages 121-126, August 2009.
18. Axt-Fliedner R, Schwarze A, Nelles I, et al. The value of uterine artery Doppler ultrasound in the prediction of severe complications in a risk population. *Arch Gynecol Obstet.* 2005;271:53–58.
19. Harrington D, Fayyad A, Thakur V, Aquilina J. The value of uterine artery Doppler in the prediction of uteroplacental complication in multiparous women. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2004;23:50–55.
20. Frusca T, Soregaroli M, Zanelli S, et al. Role of uterine artery Doppler investigation in pregnant woman with chronic hypertension. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1998;79:47–50.
21. McGowan LM, Harding JE, Roberts AB, et al: A pilot randomized controlled trial of two regimens of fetal surveillance for small-for-gestational age fetuses with normal results of umbilical artery Doppler velocimetry. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182:81.

22. Neilson JP, Alfirevic Z: Doppler ultrasound for fetal assessment in high risk pregnancies (Cochrane review). In: The Cochrane Library, Issue 1, Oxford, Update Software, 2002.
23. Westergaard HB, Langhoff-Roos J, Lingman G, et al: A critical appraisal of the use of umbilical artery Doppler ultrasound in high-risk pregnancies: use of meta-analyses in evidence-based obstetrics. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001; 17:466.
24. Harman CR, Baschat AA. Comprehensive assessment of fetal wellbeing: which Doppler tests should be performed? *Revue. Curr Opin Obstet Gynecol.* 2003 Apr;15(2):147-57.
25. Salihagić-Kadić A, Medić M, Jugović D, et al. Fetal cerebrovascular response to chronic hypoxia--implications for the prevention of brain damage *Revue J Matern Fetal Neonatal Med.* 2006 Jul;19(7):387-96.
26. Mari G, Hanif F Fetal Doppler: umbilical artery, middle cerebral artery, and venous system. *A Revue. Semin Perinatol.* 2008 Aug;32(4):253-7.
27. Hoffman C, Galan HL. Assessing the 'at-risk' fetus: Doppler ultrasound. *A Revue Curr Opin Obstet Gynecol.* 2009 Apr;21(2):161-6.
28. Madazli R. Prognostic factors for survival of growth-restricted fetuses with absent end-diastolic velocity in the umbilical artery. *J Perinatol.* 2002 Jun;22(4):286-90.
29. Baschat AA. Doppler application in the delivery timing of the preterm growth-restricted fetus: another step in the right direction. *A revue Ultrasound Obstet Gynecol.* 2004 Feb;23(2):111-8.

30. Baschat AA, Gembruch U, Harman CR The sequence of changes in Doppler and biophysical parameters as severe fetal growth restriction worsens. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2001 Dec;18(6):571-7.
31. Madazli R Prognostic factors for survival of growth-restricted fetuses with absent end-diastolic velocity in the umbilical artery. *J Perinatol.* 2002 Jun;22(4):286-90.
32. Alves SK, Francisco RP, Miyadahira S, et al. Ductus venosus Doppler and postnatal outcomes in fetuses with absent or reversed end-diastolic flow in the umbilical arteries. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2008 Dec;141(2):100-3.
33. Baschat AA. Arterial and venous Doppler in the diagnosis and management of early onset fetal growth restriction. *A Revue Early Hum Dev.* 2005 Nov;81(11):877-87. Epub 2005 Nov 8.
34. Baschat AA, Gembruch U, Reiss I, et al. Relationship between arterial and venous Doppler and perinatal outcome in fetal growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2000 Oct;16(5):407-13.
35. Baschat AA. Doppler application in the delivery timing of the preterm growth-restricted fetus: another step in the right direction. *A revue Ultrasound Obstet Gynecol.* 2004 Feb;23(2):111-8.
36. Giorlandino C. Caserta L. *Trattato di Medicina interna e semeiotica biofisica del feto* pg 356 – 360 CIC edizioni internazionali 2010.
37. Montenegro CA, Meirelles Filho J, Fonseca AL, et al. Cordocentesis and evaluation of fetal wellbeing in a

very high-risk population (a very reliable index) ] *Rev Fr Gynecol Obstet.* 1992 Oct;87(10):467-8, 471-7.

38. Nomura RM, Francisco RP, Miyadahira S, Zugaib M. Cardiotocography in pregnancies with absent or reversed end-diastolic velocity in the umbilical arteries: analysis of perinatal outcome. *Rev Assoc Med Bras.* 2003 Jan-Mar;49(1):79-85.
39. Lerner JP - *Obstet Gynecol Clin North Am* - 01-MAR-2004.
40. American College of Obstetricians and Gynecologists: Intrauterine growth restriction. American College of Obstetricians and Gynecologists Washington, DC 2000.
41. Royal College of Obstetricians and Gynecologists: The investigation and management of the small-for-gestational-age fetus. Guideline No. 31 Royal College of Obstetricians and Gynecologists London, UK 2002.
42. Gagnon R, Van den Hof M: Diagnostic Imaging Committee, Executive and Council of the Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada. The use of fetal Doppler in obstetrics. *J Obstet Gynecol Can* 2003; 25:601.
43. Goffinet F, Paris-Llado J, Nisand I, Breart G.: Umbilical artery Doppler velocimetry in unselected and low risk pregnancies: a review of randomized controlled trials. *Br J Obstet Gynaecol* 1997; 104:425.
44. Bricker L, Neilson JP Routine doppler ultrasound in pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2000;(2):CD001450.

45. Bricker L, Neilson JP Routine doppler ultrasound in pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007 Jul 18;(2):CD001450.
46. Alfirevic Z, Stampalija T, Gyte GM Fetal and umbilical Doppler ultrasound in normal pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010 Aug 4;8:CD001450.
47. Divon MY, Ferber A.: Evidence-based antepartum fetal testing. *Perinatal Neonatal Med* 2000; 5:3.
48. Giles WB, Bisits A.: Clinical use of Doppler in pregnancy: information from six randomized trials. *Fetal Diagn Ther* 1993; 8:247.
49. Alfirevic Z, Neilson JP: Doppler ultrasonography in high-risk pregnancies: systematic review with meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172:1379.
50. Alfirevic Z, Stampalija T, Gyte GM. Fetal and umbilical Doppler ultrasound in high-risk pregnancies *Cochrane Database Syst Rev.* 2010 Jan 20;(1):CD007529.
51. Fong KW, Ohlsson A, Hannah ME, Grisaru S, et al. Prediction of perinatal outcome in fetuses suspected to have intrauterine growth restriction: Doppler US study of fetal cerebral,renal, and umbilical arteries. *Radiology* 1999;213:681–9.
52. Trudinger BJ, Cook CM, Giles WB, et al. Fetal umbilical artery velocity waveforms and subsequent neonatal outcome. *Br J Obstet Gynaecol* 1991;98:378–84.
53. Hartung J, Kalache KD, Bollmann R, Chaoui R Outcome of 60 neonates who had ARED flow prenatally compared with a matched control group of appropriate-for-gestational

- age preterm neonates. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2005 Jun;25(6):566-72.
54. Executive and Council of the Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada S O G C Practice guidelines: The use of Fetal Doppler in Obstetric No. 130, July 2003.
  55. Gagnon R, Lamb T, Richardson B. Cerebral circulatory responses of near-term ovine fetuses during sustained fetal placental embolization. *Am J Physiol* 1997;273:H2001–8.
  56. Wladimiroff JW, Tonge HM, Stewart PA. Doppler ultrasound assessment of cerebral blood flow in the human fetus. *Br J Obstet Gynaecol* 1986;93:471–5.
  57. Connors G, Hunse C, Gagnon R, et al. Perinatal assessment of cerebral flow velocity wave forms in the human fetus and neonate. *Pediatr Res* 1992;31:649–52.
  58. Gramellini D, Folli MC, Raboni S, et al. Cerebral umbilical Doppler ratio as a predictor of adverse perinatal outcome. Cerebral and umbilical ratio: *Obstet Gynecol* 1992;79:416-20.
  59. Mari G, Deter RL, Carpenter RL, et al. The use of ultrasonography and Doppler in the prediction of fetal haemolytic anaemia: a multivariate analysis. *Br J Obstet Gynaecol* 1994;101:680–4.
  60. Mari G, Deter RL, Carpenter RL, Rahman F, et al. Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal re-cell alloimmunization. Collaborative Group for Doppler Assessment of the Blood Velocity in Anemic Fetuses. *N Engl J Med* 2000;342:9–14.

61. Divakaran TG, Waugh J, Clark TJ, et al. Noninvasive techniques to detect fetal anemia due to red blood cell alloimmunization: a systematic review. *Obstet Gynecol* 2001;98:509–17.
62. Mari G, Detti L, Oz U, et al. Accurate prediction of fetal hemoglobin by Doppler ultrasonography. *Obstet Gynecol* 2002;99:589–93.
63. Nicolaides KH, Bilardo CM, Soothill P, Campbell S. Absence of end diastolic frequencies in umbilical artery: a sign of fetal hypoxia and acidosis. *BMJ* 1988; 209:1026.
64. Bilardo CM, Nicolaides KH, Campbell S. Doppler measurements of fetal and uteroplacental circulations: Relationship with umbilical venous blood gases measured at cordocentesis. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162:115.
65. Erz W, Gonser M Doppler ultrasound of the middle cerebral artery: pre-final normalization of cerebrovascular circulation *M Geburtshilfe Frauenheilkd.* 1995 Jul;55(7):407-10.
66. Baschat AA. Doppler application in the delivery timing of the preterm growth-restricted fetus: another step in the right direction *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2004 Feb;23(2):111-8.
67. Baschat AA. Arterial and venous Doppler in the diagnosis and management of early onset fetal growth restriction. *Early Hum Dev.* 2005 Nov;81(11):877-87. Epub 2005 Nov 8.
68. Haws RA, Yakoob MY, Soomro T, et al. Reducing stillbirths: screening and monitoring during pregnancy and labour. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2009 May 7;9 Suppl 1:S5.



69. Mari G, Hanif F. Fetal Doppler: umbilical artery, middle cerebral artery, and venous system. *Semin Perinatol*. 2008 Aug;32(4):253-7.
70. Hoffman C, Galan HL. Assessing the 'at-risk' fetus: Doppler ultrasound. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2009 Apr;21(2):161-6.
71. Manning FA, Morrison I, Lange IR, et al Fetal assessment based on fetal biophysical profile scoring: experience in 12,620 referred high-risk pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 151:343.
72. Manning FA Biophysical profile scoring. In Nijhuis J (ed): *Fetal Behaviour*. New York, Oxford University Press, 1992, p 241.
73. Manning F, Platt L, Sipos L. Antepartum fetal evaluation: development of a fetal biophysical profile. *Am J Obstet Gynecol* 1980; 136:787.
74. Pillai M, James D. The importance of behavioral state in biophysical assessment of the term human fetus. *Br J Obstet Gynaecol* 1990; 97:1130.
75. Manning FA, Harman CR, Morrison I, et al. Fetal assessment based on fetal biophysical profile scoring. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162:703.
76. Manning FA. Biophysical profile scoring. In Nijhuis J (ed): *Fetal Behaviour*. New York, Oxford University Press, 1992, p 241.
77. Manning FA: Assessment of fetal condition and risk: analysis of single and combined biophysical variable monitoring. *Semin Perinatol* 1985; 9:168.

78. Van Woerden EE, VanGeijn HP: Heart-rate patterns and fetal movements. In: Nijhuis J, ed. *Fetal Behaviour*, New York: Oxford University Press; 1992:41.
79. Colin AA, McEvoy C, Castile RG Respiratory morbidity and lung function in preterm infants of 32 to 36 weeks' gestational age. *A revue. Pediatrics*. 2010 Jul;126(1):115-28. Epub 2010 Jun 7.
80. Manning F, Lange I, Morrison I, et al. Fetal biophysical profile score and the nonstress test: a comparative trial. *Obstet Gynecol* 1984; 64:326.
81. Alfirevic Z, Neilson JP. Biophysical profile for fetal assessment in high risk pregnancies. *Cochrane Database Syst Rev*. 2000;(2):CD000038.
82. Lalor JG, Fawole B, Alfirevic Z, Devane D. Biophysical profile for fetal assessment in high risk pregnancies. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008 Jan 23;(1):CD000038.
83. Guerrero Casillas MA, Romero Gutiérrez G, Molina Correlation between Doppler fluxometry of middle cerebral artery/umbilical and non stress test as methods of antepartum fetal surveillance Rodríguez R, Guzán Mena G. *Ginecol Obstet Mex*. 2007 Apr;75(4):193-9.
84. Liang X, Zhang D, Xie Y, Zhu F, Jing F, Yi Q. Comparison of Doppler examination and non-stress test in the prediction of intrauterine fetal hypoxia *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 2002 Apr;37(4):214-6.
85. Gramellini D, Piantelli G, Verrotti C, et al. Doppler velocimetry and non stress test in severe fetal growth restriction. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2001;28(1):33-9.

86. Trial registrato Trial of Umbilical and Foetal Flow in Europe: TRUFFLE study (a multicentre three-armed randomised controlled trial) ISRCTN56204499.
87. Haws RA, Yakoob MY, Soomro T, et al. Reducing stillbirths: screening and monitoring during pregnancy and labour. *A Revue BMC Pregnancy Childbirth*. 2009 May 7;9 Suppl 1:S5.
88. Smith JF Jr Fetal health assessment using prenatal diagnostic techniques. *A Revue Curr Opin Obstet Gynecol*. 2008 Apr;20(2):152-6.
89. Chandraharan E, Arulkumaran S. Prevention of birth asphyxia: responding appropriately to cardiotocograph (CTG) traces. *A Revue Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2007 Aug;21(4):609-24. Epub 2007 Mar 30.
90. Phelan JP. *Clin Perinatol*. Perinatal risk management: obstetric methods to prevent birth asphyxia. *A Revue* 2005 Mar;32(1):1-17.
91. Van Laar JO, Porath MM, Peters CH, Oei SG. Spectral analysis of fetal heart rate variability for fetal surveillance: review of the literature. *A Revue Acta Obstet Gynecol Scand*. 2008;87(3):300-6.



# LA DIAGNOSI PRENATALE INVASIVA

## **Norme generali**

In Italia nascono ogni anno circa 30.000 neonati affetti da una malattia genetica o congenita; alcune di queste anomalie possono essere diagnosticate con apposite procedure che costituiscono le tecniche di diagnosi prenatale. Le tecniche, che consistono nel prelievo di campioni biologici fetali, sono *la villocentesi, l'amniocentesi, la funicolocentesi e l'embrioscopia/fetoscopia*.

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

- 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.

### **Indicazioni alla diagnosi prenatale**

Sono indicazioni riconosciute dalle *Linee Guida per i test genetici* approvate dal Comitato Nazionale per la Biosicurezza e le Biotecnologie della Presidenza del Consiglio dei Ministri, alcune condizioni che aumentano il rischio che il feto possa essere portatore di una anomalia genetica.

Secondo queste Linee Guida le indicazioni per la diagnosi prenatale rientrano in due grandi categorie:

- a) Presenza di un rischio procreativo prevedibile a priori:
  - età materna avanzata (= o > 35 aa.);
  - 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.

- b) Presenza di un rischio fetale resosi evidente nel corso della gestazione: malformazioni evidenziate dall'esame ecografico, malattie infettive insorte in gravidanza, positività dei test biochimici per anomalie cromosomiche, familiarità per patologie genetiche.

In questo gruppo rientrano tutte quelle ricerche mirate note come "*approfondimento diagnostico prenatale*" che devono essere sottoposte alla *consulenza del genetista* o dell'ostetrico con esperienza specifica e che sappia individuare lo specifico esame genetico in grado di confermare, per quanto possibile dalle metodiche di biologia molecolare, l'esistenza di una patologia sospettata all'esame ecografico.

A tutte queste indicazioni si va sempre più aggiungendo la libera scelta della genitrice e della coppia. La gestante infatti, come stabilito dal Legislatore ha il pieno diritto di essere consapevole ed informata sullo stato del nascituro ed è quindi libera di accedere alla Diagnosi Prenatale invasiva sempre che ben informata sui rischi e sui benefici dell'esame al quale va sottoponendosi. Il medico inoltre non può esimersi da eseguirla in considerazione del rischio di incorrere in inadempienza professionale in caso di omessa diagnosi.

## **Normativa e disposizioni legislative**

### *Requisiti per gli operatori di Diagnosi Prenatale*

Vi è generale accordo e chiara indicazione in tutte le linee-guida internazionali che le tecniche di Diagnosi prenatale debbono essere praticate da operatori esperti e che il rischio di aborto si riduce con il crescere della esperienza dell'operatore.

Secondo le indicazioni del Comitato Nazionale Biosicurezza e Biotecnologie che ha redatto le Linee-guida per i test genetici<sup>1</sup>

l'operatore ostetrico deve avere un curriculum di esperto nei metodi di prelievo impiegati, essere addestrato all'utilizzazione del mezzo ecografico con un livello elevato di capacità tecnica, ed avere conoscenze della fisiopatologia fetale. Il livello qualitativo dell'operatore deve essere garantito da un numero sufficiente di interventi eseguiti in un tempo determinato<sup>2</sup>. Il Comitato, in accordo con altri organismi internazionali (National Board of Health in Danimarca) ha indicato in un addestramento di almeno 100 amniocentesi il livello minimo di preparazione, ed in una esperienza annuale di almeno 200 procedure la validazione professionale per tale indagine. Per la villocentesi gli operatori dovrebbero avere un addestramento preparatorio di almeno 250 procedure ed il numero dei prelievi per anno dovrebbe ammontare ad almeno 400<sup>3,4</sup>.

La recente Cassazione (cfr. III Sez. Civ. 30 luglio 2004, n. 14638, RV 579325) stabilisce l'obbligo a riportare nel consenso informato con assoluta correttezza l'esatta esperienza dell'operatore ed il livello di competenza di chi opera, nonché tutte le specifiche sulle apparecchiature ed i metodi utilizzati.

In base alle disposizioni vigenti vi è accordo per affidare la diagnosi prenatale esclusivamente a Ostetrico/ginecologi esperti nella materia, che abbiano seguito un training specifico e che dimostrino una continuità di esperienza nello specifico settore.

La esperienza dell'operatore deve essere nota alla gestante.

### **Normativa sui Centri di Diagnosi Prenatale**

L'accordo Stato Regioni (stilato dal Dipartimento della Qualità - Direzione Generale della Programmazione Sanitaria, dei livelli di assistenza e dei principi Etici - Ufficio III°- del Ministero della Salute) e relativo ai requisiti strutturali, tecnologici ed



organizzativi minimi per l'esercizio dell'attività sanitaria in materia di chirurgia ambulatoriale, di prestazioni diagnostiche e terapeutiche di particolare complessità o che comportino un rischio per la sicurezza del paziente, di day surgery limitatamente ai presidi autonomi extraospedalieri di day surgery, di dialisi ed elenchi delle relative prestazioni, *inserisce gli esami di Diagnosi prenatale negli interventi chirurgici di natura ostetrica da eseguirsi in Centri extraospedalieri di chirurgia*. Per centri extraospedalieri si definisce una struttura sanitaria, pubblica o privata, di maggiore complessità strutturale, tecnologica ed organizzativa dell'ambulatorio, che può erogare prestazioni di chirurgia ambulatoriale in anestesia loco regionale periferica, che non richiedono ricovero, neanche a ciclo diurno. Il centro chirurgico è localizzato preferibilmente in strutture ospedaliere. Il centro deve essere dotato di area amministrativa, sala operatoria, locale di assistenza post operatoria e deve garantire le funzioni di disinfezione, sterilizzazione, gestione farmaci e materiale sanitario. A seguito del predetto accordo è stato stilato uno schema di D.P.C.M. inviato in data 19.01.2006 dal Ministero della Salute alla Conferenza permanente per rapporti tra lo stato, le regioni e le provincie autonome.

L'allegato 1 del DM 22 luglio 1996 stabiliva già da oltre 10 anni che le prestazioni diagnostiche prenatali invasive erogate dal SSN dovessero essere eseguite solo presso ambulatori protetti, ossia presso ambulatori situati nell'ambito di istituti di ricovero ospedaliero (art. 1 c. 2 lettera a). In particolare, all'interno di tali prestazioni, contrassegnate nel succitato DM con la lettera "H", ricadevano le tecniche invasive relative a: prelievo dei villi coriali (cod. 75.1.1), amniocentesi precoce (cod. 75.1.2), amniocentesi tardiva (cod. 75.1.3), funicolocentesi con raccolta di cellule (cod. 75.33.1)<sup>5</sup>.

In seguito, con l'adozione da parte di molte Regioni della normativa nazionale relativa agli "ambulatori chirurgici" e/o ai "Day-Surgery", si è proceduto a consentire l'esecuzione delle

tecniche di diagnosi prenatale invasiva presso le strutture in cui sussiste *"la possibilità clinica, organizzativa ed amministrativa di effettuare interventi chirurgici od anche procedure diagnostiche e/o terapeutiche invasive e seminvasive in regime di ricovero limitato alle sole ore del giorno, anche in anestesia locale, locoregionale o generale"*<sup>6</sup>.

A livello nazionale, la Legge del 18 luglio 1996, n. 382<sup>7</sup> ed il successivo DPR 14 gennaio 1997<sup>8</sup> e successive modificazioni ed integrazioni forniscono un contributo decisivo alla individuazione, tra le altre cose, dei requisiti minimi strutturali e tecnologici specifici per le strutture che erogano prestazioni di assistenza specialistica in regime ambulatoriale e di Day Surgery. Tale normativa nazionale è stata estesa a tutti i presidi sanitari sia pubblici e privati, i quali oggi per poter esercitare la propria attività assistenziale necessitano di una autorizzazione rilasciata a seguito della verifica del possesso dei requisiti contenuti nel succitato Decreto.

Tale obbligo normativo, a seguito della introduzione della Legge costituzionale 18 ottobre 2001, n. 3<sup>9</sup> che rende la sanità una materia legislativa concorrente - a livello nazionale viene fornita la cornice regolatoria entro la quale le Regioni hanno potestà legislativa - è valido su tutto il territorio italiano e, quindi, anche in Regioni che non hanno ancora recepito, con apposita Legge Regionale, la normativa nazionale.

Sempre a livello centrale, il Ministero della Sanità ha poi istituito con Decreto ministeriale del 12 settembre 2000 una "Commissione di studio sulla day-surgery e la chirurgia ambulatoriale" con il compito di individuare i Requisiti minimi strumentali, tecnologici ed organizzativi di entrambi i setting assistenziali.

Un ulteriore passaggio normativo si è raggiunto nella seduta della Conferenza Stato Regioni del 1 agosto 2002<sup>10</sup> dove, il Ministero della salute, le Regioni e le Province autonome di Trento e

Bolzano hanno sancito l'Accordo sulle "Linee guida per le attività di Day surgery" e la conseguente istituzione di un apposito tavolo tecnico Ministero - Regioni con il compito di individuare i criteri per il monitoraggio dell'attività di day surgery. Le linee guida definiscono, in via esemplificativa, gli interventi e le procedure chirurgiche effettuabili in day surgery ed annoverano, tra gli Interventi Ostetrici, l'amniocentesi diagnostica prelievo dei villi coriali.

In considerazione di tutto l'iter normativo sovra esposto, in pratica, oggi, non è più consentita l'esecuzione di procedure di Diagnosi Prenatale Invasiva in studi medici, ambulatori o poliambulatori medico-specialistici che non rispondono ai requisiti previsti per l'ambulatorio chirurgico o per il Day surgery.

### **Consensi informati**

In base ai dettami stabiliti dal Comitato di Bioetica, in ossequio alle norme vigenti ed alla buona pratica clinica si segua il principio stabilito che: **devono essere considerati parti integranti di un test genetico la comunicazione e l'interpretazione dei risultati e la consulenza sulle loro possibili implicazioni.**

Nell'offrire un test genetico ad un soggetto è necessario discutere preliminarmente tutte le possibili implicazioni sui rischi e sulle potenzialità dell'esame che si va ad eseguire. Il consenso informato ad un test genetico è il risultato di un processo che deve aiutare la gestante a decidere se sottoporsi o meno al test. Tale processo consultoriale è una tappa essenziale per la esecuzione del test. Il consenso deve essere discusso e raccolto poi in forma scritta e sottoscritto da chi lo rende e dalla gestante che dichiara di aver ben compreso rischi della procedura e potenzialità diagnostiche del test, soprattutto se quest'ultime possono essere gravate da una ridotta attendibilità, da falsi positivi e/o negativi. Si ribadisce che

la Cassazione (cfr. III Sez. Civ. 30 luglio 2004, n. 14638, RV 579325) stabilisce l'obbligo a riportare nel consenso informato con assoluta correttezza l'esatta esperienza dell'operatore ed il livello di competenza di chi opera, nonché tutte le specifiche sulle apparecchiature ed i metodi utilizzati.

Il Consenso informato deve contenere chiare informazioni sui rischi ed i benefici della metodica alla quale la gestante deve sottoporsi. Deve contenere l'esatta esperienza dell'operatore ed il livello di competenza di chi opera, nonché tutte le specifiche sulle apparecchiature ed i metodi utilizzati. Deve essere firmato e sottoscritto dalla gestante e dal medico.

### **Scelta del tipo di diagnosi prenatale**

La scelta della tecnica di Diagnosi prenatale da attuare in ogni singolo caso risponde ad un principio di buon senso che viene regolato dalla seguente formula: *Per primo si scelga la tecnica più opportuna ed affidabile, poi la meno rischiosa e quindi la più rapida*<sup>11</sup>.

È noto che, in Europa, il tipo di diagnosi prenatale più diffuso sia l'amniocentesi, con un rapporto stimato rispetto alla villocentesi di 9/1<sup>12</sup>.

La scelta della tecnica più opportuna si evince dai dati della letteratura che indicano su quale tessuto fetale l'indagine specifica è più affidabile.

#### *Rischio relativo di aborto tra amniocentesi e villocentesi*

Nel 2000 una analisi Cochrane dimostrava un aumento del rischio della villocentesi legata alla procedura<sup>13</sup>. Successivamente, su 14 studi randomizzati inclusi nell'analisi Cochrane del 2003<sup>14</sup> non si è riscontrata differenza del rischio di aborto a seguito delle due metodiche. La villocentesi sembra avere un numero maggiore di

aborti solo per un aumento del rischio di aborto di base legato all'epoca precoce di gravidanza.

Amniocentesi e villocentesi, allo stato attuale delle esperienze, sembrano presentare analoghi rischi di aborto.

I/IB

### *Gemellarità monozigote.*

La letteratura mette in evidenza come sia estremamente difficile verificare e distinguere l'origine del materiale fetale da due gemelli omozigoti. D'altra parte risulta necessario stabilirne l'origine poiché, contrariamente da quanto comunemente ritenuto, anche nei gemelli omozigoti esiste la possibilità di differenze genetiche fenotipiche ed addirittura cromosomiche. Gli studi sconsigliano pertanto di praticare in tali casi la villocentesi e di eseguire l'amniocentesi nei due diversi sacchi amniotici nella gravidanza biamniotica<sup>15-18</sup>. La villocentesi nelle gravidanze bicoriali deve essere riservata in quei casi ove non vi sia sospetto di errore di prelievo e dove la urgenza di una diagnosi precoce (familiarità per malattia trasmissibile, età materna, sospetto ecografico) richieda una diagnosi rapida. In casistiche accurate emerge che anche nelle gravidanze bicoriali il rischio di contaminazione è elevato, circa il 4%<sup>19</sup>.

Nei casi in cui sia richiesta una diagnosi in gemelli omozigoti (se biamniotici) si preferisce l'amniocentesi con prelievo nei due sacchi. La villocentesi in gemelli bicoriali espone ad un rischio di contaminazione.

IV/VB

## Bibliografia

1. Gruppo di lavoro del Comitato Nazionale Biosicurezza e Biotecnologie della Presidenza del Consiglio dei Ministri (1998). Linee Guida per Test Genetici. Linee guida per l'effettuazione dei test genetici in Italia. p. 126. Roma Istituto Superiore di Sanità.
2. WHO-Regional Office for Europe, 1992; European Association of Perinatal Medicine, 1993.
3. WHO-Regional Office for Europe Working Group, Risk evaluation of chorionic villus sampling = CVS, document EUR/ICPMCH 123, Copenhagen, 1992.
4. European Association of Perinatal Medicine, Recommendations and Protocols for Prenatal Diagnosis, 1993.
5. Decreto Ministeriale 22 luglio 1996. Prestazioni di assistenza specialistica ambulatoriale erogabili nell'ambito del Servizio sanitario nazionale e relative tariffe. (G.U. Serie Generale n. 216 del 14 settembre 1996).
6. I. Mastrobuono, F. Mastrilli, M.C. Mazzeo. Proposta di regolamentazione degli interventi chirurgici e delle procedure interventistiche diagnostiche e/o terapeutiche da effettuare in regime di assistenza chirurgica a ciclo diurno". Agenzia per i Servizi Sanitari Regionali, 1996.
7. Legge del 18 luglio 1996, n. 382 "Conversione in legge, con modificazioni, del decreto-legge 17 maggio 1996, n.280, recante disposizioni urgenti nel settore sanitario".
8. Decreto del Presidente della Repubblica del 14 gennaio (pubbl. sul supplemento ordinario alla G.U. n. 42 del 20

febbraio 1997) “Approvazione dell’atto di indirizzo e coordinamento alle regioni e alle province autonome di Trento e di Bolzano, in materia di requisiti strutturali, tecnologici ed organizzativi minimi per l’esercizio delle attività sanitarie da parte delle strutture pubbliche e private”.

9. Legge costituzionale 18 ottobre 2001, n. 3 Modifica al titolo V della Costituzione” pubblicata nella Gazzetta Ufficiale n. 248 del 24 ottobre 2001.
10. Repertorio Atti n. 1516 del 1° agosto 2002 come rettificato con Atto Repertorio n. 1518 del 25 settembre 2002 Conferenza Stato - Regioni seduta del 1° agosto 2002 “Accordo tra il Ministro della salute, le Regioni e le Province autonome di Trento e Bolzano sul documento di “Linee guida per l’organizzazione delle attività di Day surgery”.
11. C. Giorlandino Trattato di diagnosi prenatale invasiva. pg XIX. CIC ed. Internazionali 1997.
12. Garne E, Loane M, de Vigan C, et al. Prenatal diagnostic procedures used in pregnancies with congenital malformations in 14 regions of Europe. *Prenat Diagn.* 2004 Nov;24(11):908-12.
13. Alfirevic Z, Gosden CM, Neilson JP. Chorion villus sampling versus amniocentesis for prenatal diagnosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2000;(2):CD000055.
14. Alfirevic Z, Sundberg K, Brigham S. Amniocentesis and chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003;(3):CD003252.

15. Gentilin B, Gueneri S, Bianchi V, et al. Discordant prenatal phenotype and karyotype of monozygotic twins characterized by the unequal distribution of two cell lines investigated by different methods: a review. *Twin Res Hum Genet.* 2008 Jun;11(3):352-6.
16. Nieuwint A, Van Zalen-Sprock R, Hummel P, Pals G, Van Vugt J, Van Der Harten H, Heins Y, Madan K. 'Identical' twins with discordant karyotypes. *Prenat Diagn.* 1999 Jan;19(1):72-6.
17. Gilbert B, Yardin C, Briault S, Belin V, Lienhardt A, Aubard Y, Battin J, Servaud M, Philippe HJ, Lacombe D. Prenatal diagnosis of female monozygotic twins discordant for Turner syndrome: implications for prenatal genetic counselling. *Prenat Diagn.* 2002 Aug;22(8):697-702.
18. De Catte L, Liebaers I, Foulon W.: Outcome of twin gestations after first trimester chorionic villus sampling. *Obstet Gynecol* 2000; 96:714.
19. Jenkins TM, Wapner RJ: The challenge of prenatal diagnosis in twin pregnancies. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2000; 12:87.



# TECNICHE DI DIAGNOSI PRENATALE 7

## **Amniocentesi**

L'amniocentesi è la tecnica più diffusa di diagnosi prenatale. Gli Autori anglosassoni, per differenziarla dalla stessa procedura a fini diversi, la chiamano genetic amniocentesis, di qui l'usanza anche tra di noi di chiamare l'amniocentesi diagnostica del secondo trimestre amniocentesi genetica. Pur mancando censimenti completi, da un censimento volontario della Società Italiana di Genetica Umana è emerso che nel 2007 in Italia si sono eseguite 101.750 di queste procedure<sup>1</sup>. Tale numero è certamente sottostimato in considerazione del fatto che hanno fornito dati solo 171 laboratori di genetica, tra pubblici e privati, nel panorama totale delle strutture diagnostiche. Quindi numerose procedure non sono state computate. Verosimilmente, si ritiene che, negli ultimi anni, il numero stia salendo verso le 120.000 procedure. Se al numero delle amniocentesi si somma quello delle indagini su villi coriali (nel 2007 ne sono stati registrati 25.691) si evince che, in Italia, le procedure di diagnosi prenatale superano le 150.000.

Questo vuol dire che, da noi, oltre il 25% delle gestanti si sottopone a diagnosi prenatale. Inoltre va segnalato come vi sia una situazione a “macchia di leopardo” con un maggior numero di esami eseguiti al Centro, Nord Ovest ed un numero minore nelle Regioni del Nord Est e nel Sud Italia<sup>2</sup>.

È infatti noto che il numero delle diagnosi prenatali è in continua ascesa in tutto il mondo<sup>3</sup> ed in Italia questo fenomeno è evidente anche dopo l'introduzione degli screening prenatali ecografici e biochimici per le aneuploidie fetali che avrebbero dovuto teoricamente ridurla<sup>4</sup>. Il numero delle gestanti che si sottopongono a diagnosi prenatale sta salendo in relazione a tre aspetti. Il primo è la sostanziale riduzione del rischio di aborto che in passato si stimava intorno all'1%<sup>5</sup>, e che, dopo 25 anni, secondo gli attuali studi caso controllo e randomizzati si è ridotto in maniera sostanziale<sup>6-9</sup>. La seconda ragione deriva dal fatto che sempre più donne cercano certezze e che la diagnosi prenatale, grazie alla introduzione di tecniche di biologia molecolare e di biochimica molto raffinate permette oggi di screenare e diagnosticare un numero enormemente maggiore di affezioni rispetto a quelle possibili, un tempo, solo con la citogenetica tradizionale<sup>10-15</sup>.

### *Epoca di esecuzione dell'amniocentesi*

Vi è unanime accordo nel datare l'epoca dell'amniocentesi genetica nel secondo trimestre di gravidanza. Tutti i trial esaminati<sup>1,8</sup>, gli studi retrospettivi<sup>6-7</sup>, le revue<sup>9,16-18</sup> rivelano come le procedure debbano essere eseguite fra le 15 e le 18 settimane di gestazione. L'epoca tra le 15 e le 17 settimane permette una maggior raccolta di amniociti e le procedure prima della 14 settimana sono gravate da un rischio abortivo molto elevato fino ad oltre il 6% in trial controllati<sup>19</sup>. Procedure eseguite prima di tali settimane aumentano il rischio di anomalie fetali (es. talipes) e con rischio maggiore per le 13 settimane o inferiori<sup>18,20</sup>.

L'epoca di esecuzione dell'Amniocentesi genetica si colloca tra le 15 e le 18 settimane. L'esame è sconsigliato prima delle 14 settimane. IA

### *Rischio della procedura.*

Il rischio di aborto a seguito di una amniocentesi, per circa 20 anni si è ritenuto aggirarsi intorno all'1% in accordo con i risultati dell'unico studio randomizzato pubblicato da Tabor nel 1986<sup>5</sup>. Nel 2009, il classico lavoro di Tabor è stato superato da uno studio di eguale disegno clinico (APGA Trial)<sup>8</sup> ma riportante una maggiore casistica (36.247 soggetti reclutabili). Il rischio di aborto in tale studio differiva sostanzialmente fra i soggetti che eseguivano una profilassi con antibiotico (0.031%) rispetto a quelli che non la praticavano (0.28%). A questo studio, da alcuni Autori è stata mossa l'osservazione che tali risultati potessero non essere generalizzabili poiché, anche se la casistica era la più ampia mai osservata in un simile trial, erano stati ottenuti in un singolo centro<sup>21</sup>. La stessa revue, sulla base di studi raccolti nell'arco di 25 anni, ed in Centri molto diversi stabiliva un rischio di aborto variabile tra lo 0.5 e l'1%. Ampie casistiche molto recenti dimostravano un rischio in genere non superiore allo 0.1%<sup>7</sup>. Ancora più basso il rischio attualmente riportato dal First And Second Trimester Evaluation of Risk for Aneuploidy trial<sup>22</sup> che si stima intorno allo 0.06%. In tutti gli studi controllati, tranne uno<sup>22</sup>, si fa riferimento all'esperienza dell'operatore come elemento essenziale per ridurre il rischio abortivo.

Per quanto attiene alle gravidanze gemellari esistono studi retrospettivi. I più antichi riportano rischi molto elevati. Anderson<sup>24</sup>, 20 anni or sono, riportava un rischio del 3.57% che, nella sua casistica, era di circa 5 volte superiore al rischio dello 0.6% riscontrato nelle gravidanze singole. Attualmente il rischio aggiuntivo sembra molto più basso di quanto si ritenesse in passato e nelle maggiori casistiche retrospettive mostra un aumento di circa il 2%<sup>25,26</sup>. È comunque opinione comune che

il rischio di aborto vari da Centro a Centro e dipenda in gran parte dall'esperienza dell'operatore<sup>27,28</sup>. Attualmente i trial randomizzati riportano rischi variabili dallo 0.1 allo 0.3% in gestanti non sottoposte a profilassi antibiotica. Il rischio riferito dell'1% non può più ritenersi attuale. Il rischio reale nelle gemellari aumenta ma non vi è accordo sul quantum.

### *Profilassi antibiotica.*

Esistono alcuni lavori retrospettivi che non trovano variazione del rischio abortivo prima/dopo/durante il trattamento con antibiotici<sup>29</sup>. Esiste un unico studio di adeguata potenza<sup>8</sup> che invece mostra una considerevole e statisticamente molto significativa evidenza della riduzione di aborti in gestanti trattate con antibiotico profilassi (Azitromicina 500 mg/die per i tre giorni che precedono la procedura).

**IIA** La profilassi con antibiotici prima di eseguire l'amniocentesi è attualmente raccomandata.

## **Soggetti a rischio**

### *Gestanti portatrici di infezioni*

I virus a trasmissione ematica costituiscono un rischio di trasmissione verticale. Per l'epatite B, esistono solo piccoli singoli studi e non mostrano alcuna evidenza di una possibile trasmissione<sup>30</sup>. In genere la trasmissione materno fetale durante l'amniocentesi si ritiene bassa<sup>31</sup>. Si ritiene però importante conoscere lo stato antigenico ematico materno e soprattutto l'eventuale carica virale per poter escludere tale evenienza<sup>31</sup>. Ci sono meno dati sulla trasmissione di epatite C, ma, ad oggi, non esiste attualmente alcuna prova che la trasmissione possa avvenire a seguito di una amniocentesi<sup>32,33</sup>. Esistono comunque segnalazioni del passaggio transplacentare di Citomegalovirus e di toxoplasmosi in soggetti portatori dell'infezione durante le procedure invasive<sup>34</sup>.

Per le gestanti portatrici di infezione da HIV la maggior parte degli studi indicano che i test invasivi possono essere un fattore di rischio di trasmissione al feto e raccomandano di evitare le diagnosi prenatali, anche se la maggior parte degli studi è antecedente l'uso di farmaci antiretrovirali<sup>35,36</sup>. Dati più robusti derivano da studi nel terzo trimestre dove si stima che il rischio relativo sia pari a 4<sup>36</sup>. Altri hanno dimostrato che il rischio si riduce durante la terapia retro virale e quando la carica virale è bassa<sup>37</sup>. Il rischio è comunque più elevato nelle donne che si sottopongono ad amniocentesi rispetto a quelle che non la eseguono<sup>38</sup>. Altri studi hanno messo in relazione il rischio di trasmissione con la terapia in uso. Le terapie più efficaci e multiple riducono il rischio di infezione verticale<sup>39</sup>.

Per quanto possibile, le indagini prenatali invasive debbono essere evitate se non è in corso opportuna terapia retro virale che riduce al massimo la carica virale materna.

II/IIIA

### *Gestanti portatrici di fibromi*

Vi sono ancora pochi studi che confrontino il rischio della diagnosi prenatale fra donne con fibromi e donne senza<sup>40,41</sup>. Studi prospettici dimostrano invece un aumento della pericolosità per villocentesi<sup>42</sup>.

Nessuno studio ha dimostrato un aumento del rischio in soggetti con fibromi uterini.

II/IIIB

## **Tecnica**

### *Ausilio ecografico*

Le attuali scuole di formazione e le casistiche riportate in letteratura concordano sul fatto che l'indagine prenatale debba essere eseguita sotto diretto controllo ecografico continuo (eco assistita o ecoguidata)<sup>8,16,18,43-45</sup>.

**IA** L'inserimento dell'ago e l'aspirazione del liquido amniotico debbono essere eseguite sotto diretto e continuo controllo ecografico.

### *Via di accesso*

L'amniocentesi può essere eseguita in via transamniotica o transplacentare a seconda delle necessità. Benché al principio si riteneva (per ragioni teoriche) che la via trans placentare fosse pericolosa, le successive esperienze, le analisi e metanalisi della letteratura, così come alcune linee guida internazionali (Royal College), ritengono oggi che la via transplacentare, sotto guida ecografica sia sicura, ai fini del rischio di aborto, se non di più<sup>46,47</sup>, almeno altrettanto rispetto a quella trans amniotica<sup>23,48-50</sup>.

**III/IVA**

L'amniocentesi transplacentare è sicura se eseguita sotto continuo controllo ecografico.

## **Tipo di ago da utilizzare**

### *Analisi della letteratura:*

Sono stati esaminati due studi che hanno messo in relazione sia l'aborto che le complicanze dopo amniocentesi in relazione al gauge dell'ago utilizzato. Il primo studio, randomizzato, metteva in comparazione l'ago da gauge 20 rispetto al gauge 22 e riscontrava, paradossalmente, in quello maggiore di 20 gauge una minore contaminazione ematica del campione prelevato, tempo minore di aspirazione ma maggior discomfort della gestante<sup>51</sup>. A questo studio sono state mosse critiche metodologiche e con bassa numerosità del campione<sup>52</sup>. Il secondo studio correlava le complicanze (aborto, pPROM e bleeding o semplice leakage) con 3 gauge diversi e non trovava differenze fra il gauge utilizzato e le complicanze<sup>53</sup>. Tale studio è però retrospettivo e caratterizzato da complicanze troppo elevate per essere percentualmente accettabili secondo i comuni risultati di altri studi sia randomizzati che non.

I gauge degli aghi utilizzati variano tra 20 e 22. L'ago 20 è consigliato per un minore sanguinamento endoamniotico ma determina un aumento del discomfort alla paziente. **IIB**

## Sterilità

### *Analisi della letteratura*

Le infezioni sono la causa più frequente di complicanze abortive eseguite durante l'amniocentesi anche se eseguita con le regole dell'Arte. Le infezioni sono, nella maggioranza dei casi, inesplicabili e forse riattivazioni di infezioni latenti<sup>8</sup>. Il riscontro, in letteratura di sepsi materne, soprattutto da E. coli o da Clostridium (welchii o perfringens) a seguito di amniocentesi dove era stato inavvertitamente traversata un'ansa intestinale<sup>54,55</sup> o dove non si garantivano criteri di sterilità, impone di evitare ogni contaminazione ed esige la massima sterilità nella procedura e nella sterilizzazione della sonda<sup>56</sup>. A tal fine si ricorda che nel nostro ordinamento legislativo le procedure di diagnosi prenatale invasiva debbono essere eseguite in regime di ambulatorio chirurgico.

Massima attenzione deve essere applicata nell'evitare attraversamento di anse intestinali materne ed alle tecniche di sterilizzazione della sonda. **BPC**

## Precauzioni da utilizzare dopo la procedura

### *Riposo*

L'esecuzione dell'amniocentesi in genere non richiede riposo a letto ma solo astensione da sforzi ed attività sportiva. Il buon senso suggerisce inoltre di evitare rapporti intimi per due o tre giorni<sup>27</sup>.

Una PROM dopo amniocentesi del secondo trimestre di gravidanza è evenienza infrequente mentre un certo numero di

soggetti presenta una perdita di liquido minore (detta leakage) attraverso un piccolo difetto delle membrane senza infezione concomitante e talvolta senza accorgersene. Difficile quantizzare il numero di tali soggetti anche se questo pare avvenire molto più frequentemente nelle amniocentesi transamniotiche (6%). Il metodo di indagine più credibile per valutare questa percentuale è quello di verificare i livelli di IGFBP-1 nelle secrezioni vaginali prima e dopo l'amniocentesi<sup>47</sup>. Va detto però che all'epoca dell'amniocentesi tale proteina è poco espressa anche dopo la pPROM. La vera e propria rottura del sacco amniotico dopo amniocentesi (pPROM) è invece evenienza piuttosto infrequente, a seconda degli studi retrospettivi qui esaminati varia dallo 0.5 al 3% dei casi. Mentre nell'unico studio randomizzato di adeguata potenza oggi presente in letteratura<sup>8</sup> il rischio passa da quello di base di 1.2% allo 0.1% se si esegue profilassi con antibiotici. In queste circostanze, vi è comunque una elevata probabilità che le membrane si richiudano, e la gravidanza proceda normalmente, anche se è segnalato, in tali casi, una certa percentuale di parti pretermine<sup>47</sup>. Estese revue stabiliscono però la opportunità, in tali casi, di prescrivere riposo a letto ed antibiotici. Se invece insieme al leakage si osserva persistente sanguinamento, oligoidramnios o febbre (amnionite) la prognosi in genere sarà sfavorevole<sup>57</sup>.

BPC

Nessuno studio o linea guida ha dimostrato il beneficio del riposo a letto dopo amniocentesi. Il buon senso consiglia il riposo a letto, insieme a tocolisi ed antibiotici, necessari solo dopo comparsa di complicanze come, ad esempio, segni di PROM.

#### *Somministrazione di immunoprofilassi anti-D nelle donne Rh negative*

È tradizione praticare una immunoprofilassi anti-D in soggetti RH negativo D negative, in particolare se il partner è RH-positivo<sup>58</sup>. La possibilità che però, mediante tale procedura possa determinarsi



una isoimmunizzazione è bassa<sup>59</sup>. La somministrazione di almeno 100 mcg di immunoglobuline iperimmuni anti-D previene tali evenienze<sup>60</sup>. In considerazione del fatto che, anche se non trattate con immunoglobuline, le gravidanze a termine con incompatibilità genitoriale Rh presentano solo l'1.5% del rischio di incorrere in una isoimmunizzazione e, tenuto conto anche del fatto che la somministrazione prenatale di immunoglobuline anti-D riduce solo dello 0.2% il rischio di immunizzazione, la Cochrane si chiede se la politica di immunizzare tutte le gravide sia cost-effective<sup>61</sup>.

Circa la possibilità attuale di ricercare rapidamente, mediante tecnologia genomica, l'RH fetale sul liquido amniotico o anche nel sangue materno<sup>62-64</sup> entro le 72 ore dalla amniocentesi per eseguire la profilassi, questa tecnica dovrebbe essere incoraggiata quando si abbiano dubbi alla somministrazione di Immunoglobuline.

La somministrazione delle immunoglobuline anti-D nelle donne Rh negative è pratica molto diffusa e va praticata anche se il rischio di isoimmunizzazione è basso.

III/IVA

### *Amniocentesi nelle gravidanze multiple*

Attualmente il numero delle gravidanze multiple è in continuo aumento. Ciò avviene anche a seguito del sempre più frequente ricorso alle tecniche di fecondazione in vitro. Conseguenza è che un gran numero di gravidanze bigemine o plurigemine può accedere alla diagnosi prenatale.

## **Rischio di aborto nelle gravidanze gemellari.**

### *Analisi della letteratura*

Si ribadisce quanto già detto. Esistono solo studi retrospettivi. Circa 20 anni or sono, Anderson<sup>24</sup> riportava un rischio del 3.57% che, nella sua casistica, era di circa 5 volte superiore al rischio

dello 0.6% riscontrato nelle gravidanze singole. Attualmente si ritiene un rischio di circa il 2% per la gemellarità<sup>25,26</sup>. Stante l'enorme diversità nei rischi aggiuntivi riportati in letteratura è di tutta evidenza, ed opinione comune, che il rischio di aborto vari da Centro a Centro e dipenda in gran parte dall'esperienza dell'operatore<sup>27,28,65-70</sup>.

L'aumento del rischio di aborto è stimato "empiricamente" intorno all'1% per ogni gemello<sup>65</sup>.

III/IVC

Bisogna informare che si stima "empiricamente" che il rischio di aborto nelle amniocentesi plurigemine aumenta dell'1% per ogni gemello rispetto al rischio di base in gravidanza singola.

## Numero dei prelievi in gravidanze bicoriali

### *Analisi della letteratura*

Nelle gravidanze gemellari bicoriali il prelievo è in genere duplice<sup>48</sup>. In letteratura esistono, da oltre 20 anni esperienze di prelievi duplici ottenuti mediante una unica inserzione dell'ago. In modo che il passaggio, da un ago all'altro avviene attraverso la cavità amniotica e non attraverso due distinte inserzioni in addome<sup>66,71,72</sup>. Mancano studi randomizzati che possano stabilire il rischio relativo tra l'inserzione multipla in addome e l'attraversamento in amnios del secondo sacco. Gli stessi autori hanno evidenziato alcune criticità<sup>66</sup>, quali la contaminazione tra il materiale proveniente dai due sacchi e la possibilità di non ottenere campioni distinti. Il primo aspetto è, attualmente, particolarmente importante in considerazione del fatto che le tecniche di analisi attuali sul liquido amniotico, particolarmente quelle molecolari (che stanno implementando, affiancando e talvolta sostituendo la citogenetica tradizionale) non ammettono neanche minime contaminazioni anche se, un unico studio retrospettivo su 52 casi

non sembra dimostrare una significativa contaminazione usando la QF-PCR<sup>73</sup>. In un unico studio comparativo retrospettivo il rischio di aborto non cambiava nelle due metodiche<sup>74</sup>.

L'uso di un colorante "marcatore" per distinguere i due prelievi era un tempo la regola<sup>75</sup>.

Il Ministero della Salute<sup>76</sup>, nel 1990, sulla base di alcune segnalazioni in letteratura internazionale sul possibile effetto teratogeno del blu di metilene o dell'indaco carminio, sul feto in crescita, ha vietato, in Italia, l'uso di tali coloranti nel liquido amniotico per differenziare i sacchi ai fini dell'amniocentesi. L'effetto teratogeno si caratterizza prevalentemente nell'atresia digiuno ileale o nelle ostruzioni digiuno ileali ed è stata confermata anche dalla letteratura più recente<sup>77,78</sup>. Ad ogni modo oggi, grazie al miglioramento della risoluzione delle apparecchiature ecografiche ed alla migliorata esperienza degli operatori questa procedura di differenziazione non è più necessaria.

Nella maggior parte dei casi il prelievo di liquido amniotico nelle gravidanze multiple si esegue mediante punture distinte.

III/IVB

## Numero dei prelievi in gravidanze moncoriali

### *Analisi della letteratura*

Molti autori hanno raccomandato di eseguire, nelle amniocentesi moncoriali un unico prelievo. Esistono però due tipi di problematiche rilevate in questa pratica. Il primo è la certezza che si tratti di una moncorialità o, meglio di una monozigosità, il secondo è la possibilità, anche se non frequente, che i gemelli monozigoti possa essere differenti sia nell'assetto cromosomico che genetico.

La determinazione della corionicità è fondamentale nella valutazione del rischio perinatale e il rischio di aneuploidia<sup>79</sup>.

Essa aiuta anche nella valutazione del rischio perinatale<sup>80,81</sup>. In genere si ritiene che una buona ecografia primo trimestre è il metodo migliore per stabilire la corionicità, con una certezza pressoché assoluta sia in base all'aspetto delle membrane e del segno "lambda"<sup>82</sup> che dell'aspetto dei corion e delle membrane<sup>83</sup>. Nel secondo trimestre, epoca dell'amniocentesi, tale precisione scende<sup>84</sup> e quindi l'errore è possibile.

La possibilità che i gemelli monozigoti siano diversi geneticamente e fenotipicamente è cosa ben nota da moltissimo tempo<sup>85</sup>. Dai mosaicismi a differenze dei cromosomi sessuali, dall'X-Fragile alla sindrome di Ullrich-Turner fino alle malattie X-linked ed alle sindromi genetiche discordanti fra i gemelli monozigoti, la letteratura è piena di revue e segnalazioni sulla differenza cromosomo-genomica di gemelli monozigoti<sup>86-105</sup>. In mancanza di studi randomizzati fra uno o due prelievi in gravidanze monocoriali (o ritenute tali) sulla base dell'enorme quantità di casistica e di revue, è lecito ritenere che, a causa di questi due aspetti il prelievo in un solo sacco espone ad un rischio concreto, anche se non precisamente quantizzabile, di mancata diagnosi.

Nelle gravidanze con aspetto ecografico di monocorialità non vi è certezza che un unico prelievo di liquido amniotico garantisca diagnosi per entrambi i gemelli. Allorché si proceda ad un unico prelievo la gestante deve essere debitamente informata. Prelievi distinti vanno effettuati in centri di livello adeguato.

IV/V/  
VI A

### **Prelievo dei villi coriali**

Il prelievo dei villi coriali o villocentesi è una metodica introdotta da oltre 30 anni per anticipare i tempi di diagnosi quando questo è richiesto (età materna, rischio di malattia trasmissibile, sospetto ecografico, ansia materna). L'anticipazione della diagnosi fu molto caldeggiata negli Stati Uniti, al tempo dell'introduzione

della metodica in considerazione del maggior rischio di morte materna per interruzioni di gravidanza in epoca tardiva<sup>106</sup>.

## Tecnica

Le tecniche più utilizzate per il prelievo dei villi coriali sono state due. La prima fu la tecnica trans cervicale utilizzando un catetere che si introduce dalla cervice, la seconda la via trans addominale prelevando attraverso un ago introdotto dall'addome materno.

- La villocentesi transcervicale (TC-CVS) è di solito eseguita con un catetere flessibile in polietilene che circonda un otturatore in metallo che si estende fin poco oltre la punta del catetere. Il diametro esterno di solito è di circa 1,5 mm. Introdotto transcervicalmente sotto diretta e continua visualizzazione ecografica, il catetere/otturatore è diretto verso il tessuto trofoblastico. Dopo il ritiro dell'otturatore, sotto pressione negativa con una siringa da 20 o 30 cc si aspirano in genere da 10 a 25 mg di villi. Altro metodo prevede l'uso di un piccolo forceps. Uno strumento metallico che esegua la biopsia sotto guida ecografica. Tale ultimo metodo, secondo studi comparativi, sembra offrire alcuni vantaggi ma necessita di una esperienza specifica<sup>107</sup>. Il momento ottimale per il prelievo transcervicale è tra le 10 e le 12 settimane di gestazione completate.
- La villocentesi transaddominale (TA-CVS) può essere eseguita in vari modi. Con un unico ago inserito nella placenta o con un doppio ago (ago guida fino all'altezza del trofoblasto ed ago prelevatore all'interno di esso). In entrambi i casi si aspira con una siringa da 20 cc eseguendo contemporaneamente un movimento di andirivieni e di rotazione all'interno del trofoblasto. Il gauge dell'ago utilizzato varia molto da scuola a scuola. In Inghilterra si utilizzano aghi molto grandi

(gauge 17) che necessitano di anestesia locale prima di essere introdotti<sup>108</sup>. Scuole italiane utilizzano aghi molto più sottili (20 gauge) che non generano discomfort e non necessitano di anestesia<sup>109</sup>.

Uno studio randomizzato dimostrava, nel 1992, che la tecnica transamniotica e transcervicale della villocentesi non differiscono in rischio relativo<sup>110</sup>. Studi successivi, prospettici ma non randomizzati, dimostravano invece come la tecnica transaddominale sia gravata da minori complicanze e da un maggior successo<sup>111,112</sup>. L'esame della letteratura più recente mostra come sembri esservi una maggiore tendenza degli operatori ad eseguire villocentesi transaddominali rispetto alle transcervicali<sup>107,113,115</sup>.

I/II/  
IIIC

La villocentesi transamniotica e transaddominale sembrano offrire simili rischi e simili vantaggi. Vi è comunque attualmente una generale tendenza a preferire la via transaddominale.

## Rischi

Premesso che le casistiche comparative, studi randomizzati e database Cochrane attualmente stabiliscono che il rischio relativo tra la villocentesi e l'amniocentesi non differiscano sostanzialmente rimane evidente che, in termini assoluti, il rischio di aborto dopo villocentesi è certamente maggiore, ma questo dipende in gran parte dal maggior rischio di base per gravidanze precoci. Analisi a lungo termine non hanno dimostrato differenze sullo stato di salute dei bambini nati dopo amniocentesi o villocentesi<sup>116</sup>.

L'analisi sistematica della letteratura rileva comunque un rischio "crudo" di aborto per villocentesi variabile tra il 2 ed il 5%<sup>117,118</sup> a seconda del metodo e della casistica.

Questa differenza riflette, come al solito, la esperienza degli operatori. Il Medical Research Council European Trial of Chorionic Villus Sampling ha stabilito che la villocentesi non può essere eseguita da operatori “occasionalisti”<sup>119</sup>.

Sia il U.S. Cooperative Clinical Comparison of Chorionic Villus Sampling and Amniocentesis study<sup>120</sup> che il Canadian Collaborative CVS-Amniocentesis Trial Group study<sup>121</sup> confermano la che le perdite di gravidanze non differiscono e che nella prima parte dello studio americano l'apparente tasso di perdita in eccesso nel gruppo CVS (0.8%) non era statisticamente significativo. L'unica revisione sistematica sulla sicurezza comparativa tra TA-CVS e TC-CVS, e l'Early amniocentesis (EA) e l'amniocentesi del secondo trimestre ha concluso che l'amniocentesi del secondo trimestre è più sicura del TC-CVS e EA. Sulla base di tale revisione, TA-CVS, sarebbe preferibile alla EA o alla TC-CVS<sup>117</sup>.

La villocentesi mostra un rischio di aborto variabile in base al metodo ed all'esperienza degli operatori. Rischi “crudi” variabili dal 2% al 5% sono stati riferiti. La via preferibile sembra oggi essere la transaddominale.

I/II/  
IIIB

Il rischio di anomalie degli arti fu segnalato per la prima volta agli inizi degli anni '90<sup>122</sup>. Si trattava di un rischio molto elevato, circa 20 volte rispetto alla normale incidenza per villocentesi eseguite prima delle 9 settimane<sup>123</sup>. La gravità del difetto varia con l'epoca di amenorrea con difetti maggiori nelle villocentesi eseguite fra 49 e 65 giorni di amenorrea e minore per le successive fino a 98 giorni di amenorrea<sup>124</sup>. Il National Institute of Child Health and Human Development nel Report of the NICHHD workshop on chorionic villus sampling and limb and other defects<sup>125</sup> non ha confermato tale associazione quando le villocentesi furono eseguite dopo le 10 settimane.

I/IIIA

La villocentesi mostra un rischio di determinare anomalie degli arti se eseguita prima delle 10 settimane di gestazione. L'epoca di esecuzione della villocentesi deve essere quindi differita oltre le 10 settimane di gestazione.

### Precauzioni

Per la villocentesi valgono le medesime precauzioni già raccomandate, per l'amniocentesi.

Sono invece da tener distinte alcune evidenze.

### Profilassi antibiotica

Nessuno studio randomizzato ha segnalato la opportunità di eseguire profilassi antibiotica.

**BPC** La villocentesi non richiede profilassi antibiotica.

### Villocentesi nelle gemellarità

Numerosi studi hanno messo in evidenza i rischi di contaminazione in caso di villocentesi gemellari<sup>126</sup>. Si faccia quindi riferimento a quanto già scritto precedentemente.

IV/VB

Nei casi in cui sia richiesta una diagnosi prenatale in gemelli omozigoti biamniotici si preferisce l'amniocentesi con prelievo nei due sacchi. La villocentesi nei gemelli bicoriali espone ad un rischio di contaminazione.



## Bibliografia

1. Censimento S.I.G.U. sulle indagini citogenetiche in Italia, anno 2007. Analysis 4/9 2005.
2. Giorlandino e coll. Indagine nazionale sulla maternità e parto. Archivio documentazione Presidenza Consiglio dei Ministri. Ministero Pari Opportunità. Anno 2004.
3. Martin JA, Hamilton BE, Sutton PD, et al. Births: final data for 2003. Natl Vital Stat Rep 2005;54:1-116.
4. Forabosco A, Percesepe A, Santucci S. Incidence of non-age-dependent chromosomal abnormalities: a population-based study on 88.965 amniocenteses. Eur J Hum Genet. 2009 Jul;17(7):897-903.
5. Tabor A, Philip J, Madsen M. Randomised controlled trial of genetic amniocentesis in 4.606 low-risk women. Lancet 1986;1:1287-93.
6. Eddleman KA, Malone FD, Sullivan L, et al. Pregnancy loss rates after midtrimester amniocentesis. Obstet Gynecol. 2006 Nov;108(5):1067-72.
7. Odibo AO, Gray DL, Dicke JM, et al. Revisiting the fetal loss rate after second-trimester genetic amniocentesis: a single center's 16-year experience. Obstet Gynecol. 2008 Mar;111(3):589-95.
8. Giorlandino C, Cignini P, Cini M, et al. Antibiotic prophylaxis before second-trimester genetic amniocentesis (APGA): a single-centre open randomised controlled trial. Prenat Diagn. 2009 Jun;29(6):606-12.

9. Evans MI, Wapner RJ. Invasive prenatal diagnostic procedures 2005. *Semin Perinatol.* 2005 Aug;29(4):215-8.
10. Ferguson-Smith MA. Cytogenetics and the evolution of medical genetics. *Genet Med.* 2008 Aug;10(8):553-9.
11. Vago P. Half a century of human and medical cytogenetics: équipe de cytogénétique médicale de Clermont-Ferrand Morphologie. 2009 Aug-Sep;93(301):42-50. Epub 2009 Oct 7.
12. South ST, Chen Z, Brothman AR. Genomic medicine in prenatal diagnosis. *Clin Obstet Gynecol.* 2008 Mar;51(1):62-73.
13. Miny P, Tercanli S, Holzgreve W. Developments in laboratory techniques for prenatal diagnosis. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2002 Apr;14(2):161-8.
14. Frederickson RM, Wang HS, Surh LC. Some caveats in PCR-based prenatal diagnosis on direct amniotic fluid versus cultured amniocytes. *Prenat Diagn.* 1999 Feb;19(2):113-7.
15. Valerie J. Rappaport, MD Prenatal Diagnosis and Genetic Screening. Integration into Prenatal Care Obstetrics and Gynecology Clinics - Volume 35, Issue 3 (September 2008).
16. Stembalska A, Slezak R, Pesz K, Gil J, Sasiadek M. Prenatal diagnosis: principles of diagnostic procedures and genetic counseling. *Folia Histochem Cytobiol.* 2007;45 Suppl 1:S11-6.
17. Seeds JW. Diagnostic mid trimester amniocentesis: how safe? *Am J Obstet Gynecol.* 2004 Aug;191(2):607-15.

18. Eisenberg B, Wapner RJ. Clinical procedures in prenatal diagnosis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2002 Oct;16(5):611-27.
19. Nagel HT, Vandenbussche FP, Keirse MJ, et al. Amniocentesis before 14 completed weeks as an alternative to transabdominal chorionic villus sampling: a controlled trial with infant follow-up *Prenat Diagn.* 1998 May;18(5):465-75.
20. Alfirevic Z. Early amniocentesis versus transabdominal chorion villus sampling for prenatal diagnosis *Cochrane Database Syst Rev.* 2007 Jul 18;(3):CD000077.
21. Tabor A, Alfirevic Z. Update on procedure-related risks for prenatal diagnosis techniques. *Fetal Diagn Ther.* 2010;27(1):1-7. Epub 2009 Dec 24.
22. Eddleman KA, Malone FD, Sullivan L, et al. Pregnancy loss rates after midtrimester amniocentesis. *Obstet Gynecol.* 2006 Nov;108(5):1067-72.
23. Marthin T, Liedgren S, Hammar M. Transplacental needle passage and other risk-factors associated with second trimester amniocentesis. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1997 Sep;76(8):728-32.
24. Anderson RL, Goldberg JD, Golbus MS. Prenatal diagnosis in multiple gestation: 20 years' experience with amniocentesis. *Prenat Diagn.* 1991 Apr;11(4):263-70.
25. Yukobowich E, Anteby EY, Cohen SM, et al. Risk of fetal loss in twin pregnancies undergoing second trimester amniocentesis. *Obstet Gynecol.* 2001 Aug;98(2):231-4.

26. Cahill AG, Macones GA, Stamilio DM, et al. Pregnancy loss rate after mid-trimester amniocentesis in twin pregnancies. *Am J Obstet Gynecol.* 2009 Mar;200(3):257. e1-6. Epub 2009 Jan 10.
27. Gabbe Obstetrics: Prenatal Genetic Diagnosis in Normal and Problem Pregnancies 5th ed. 2007. Chapter 7.
28. Locock L, Field K, McPherson A, Boyd PA. Women's accounts of the physical sensation of chorionic villus sampling and amniocentesis: expectations and experience. *Midwifery.* 2010 Feb;26(1):64-75. Epub 2008 May 15.
29. Gramellini D, Fieni S, Casilla G, Raboni S, Nardelli GB. Mid-trimester amniocentesis and antibiotic prophylaxis. *Prenat Diagn.* 2007 Oct;27(10):956-9.
30. Alexander JM, Ramus R, Jackson G, et al. Risk of hepatitis B transmission after amniocentesis in chronic hepatitis B carriers. *Infect Dis Obstet Gynecol* 1999;7:283-6.
31. Davies G, Wilson RD, Desilets V, et al. Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada. Amniocentesis and women with hepatitis B, hepatitis C, or human immunodeficiency virus. *J Obstet Gynaecol Can* 2003;25:145-52.
32. Delamare C, Carbonne B, Heim N, et al Detection of hepatitis C virus DNA (HCV DNA) in amniotic fluid: a prospective study. *J Hepatol* 1999;31:416-20.
33. Hodor JG, Poggi SH, Spong CY, et al Risk of third trimester amniocentesis:a case-control study. *Am J Perinatol* 2006;23:177-80.

34. Giorlandino C, Bilancioni E, D'Alessio P, Muzii L. Risk of iatrogenic fetal infection at prenatal diagnosis. *Lancet*. 1994 Apr 9;343(8902):922-3.
35. Mandelbrot L, Mayaux MJ, Bongain A, et al Obstetric factors and mother-to-child transmission of human immunodeficiency virus type 1: the French perinatal cohorts. SEROGEST French Pediatric HIN Infection Study Group. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:661-7.
36. Tess BH, Ridrigues LC, Newell ML, et al Breastfeeding, genetic, obstetric and other risk factors associated with mother-to-child transmission of HIV-1 in Sao Paulo State, Brazil. Sao Paulo Collaborative Study for Vertical Transmission of HIV-1. *AIDS* 1998;12:513.
37. Maiques V, Garcia-Tejedor A, Perales A, et al HIV detection in amniotic fluid samples. Amniocentesis can be performed in HIV pregnant women? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2003;108:137-41.
38. Somigliana E, Bucceri AM, Tibaldi C, et al Italian Collaborative Study on HIV infection in pregnancy. Early invasive diagnostic techniques in pregnant women who are infected with the HIV: a multicenter case series. *Am J Obstet Gynecol* 2005;193:437-42.
39. Ekouko D, Khoung-Josses MA, Ghibaudo N, et al Amniocentesis in pregnant HIV-infected patients: absence of mother-to-child transmission in a series of selected patients. *Eur J Obstet Gynecol Repro Biol* 2008;140:212-17.
40. Salvador E, Bienstock J, Blakemore KJ, Pressman E. Leiomyomata uteri, genetic amniocentesis, and the risk of second-trimester spontaneous abortion. *Am J Obstet Gynecol*. 2002 May;186(5):913-5.

41. Buyukkurt S, Yuksel A, Seydaoglu G, et al The effect of amniocentesis on preterm delivery rate in women with uterine myoma. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2010;37(1):33-6.
42. Cavallotti D, Casilla G, Piantelli G, et al Early complications of prenatal invasive diagnostics: perspective analysis. *Acta Biomed.* 2004;75 Suppl 1:23-6.
43. Nizard J. Amniocentesis: technique and education. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2010 Apr;22(2):152-4.
44. Maher JE, Kleinman GE, Lile W, et al The construction and utility of an amniocentesis trainer. *Am J Obstet Gynecol.* 1998 Nov;179(5):1225-7.
45. Tonni G, Centini G, Rosignoli L, et al 4D vs 2D ultrasound-guided amniocentesis. *J Clin Ultrasound.* 2009 Oct;37(8):431-5.
46. Giorlandino C, Mobili L, Bilancioni E, et al. Transplacental amniocentesis: is it really a high-risk procedure? *Prenat Diagn* 1994;14:803–6.
47. Devlieger R, Verhaeghe J, Coopmans W, Deprest JA. IGFBP-1 levels in cervicovaginal secretions before and after amniocentesis. *Gynecol Obstet Invest.* 2009;67(1):9-13. Epub 2008 Aug 6.
48. Royal College Obstetric and Gynecology Amniocentesis and Chorionic Villus Sampling Green Top Guidelines N. 8. June 2010.
49. Williamson RA, Varner MW, Grant SS. Reduction in amniocentesis risks using a real-time needle guide procedure. *Obstet Gynecol* 1985;65:751–5.

50. Müngen E, Tütüncü L, Muhcu M, Yergök YZ. Pregnancy outcome following second-trimester amniocentesis: a case-control study. *Am J Perinatol*. 2006 Jan;23(1):25-30.
51. Athanasiadis AP, Pantazis K, Goulis DG, et al Comparison between 20G and 22G needle for second trimester amniocentesis in terms of technical aspects and short-term complications. *Prenat Diagn*. 2009 Aug;29(8):761-5.
52. Li DZ. Which is preferred: 20G or 22G needle at amniocentesis? Comment on: *Prenat Diagn*. 2009 Aug;29(8):822.
53. Uludag S, Aydin Y, Ibrahimova F, et al Comparison of complications in second trimester amniocentesis performed with 20G, 21G and 22G needles. *J Perinat Med*. 2010 Aug 13.
54. Erez Y, Ben-Shushan A, Elchalal U, et al Maternal morbidity following routine second trimester genetic amniocentesis. *Fetal Diagn Ther*. 2007;22(3):226-8. Epub 2007 Jan 17.
55. Wu HH, Yeh GP, Hsieh TC, Lin KC. Fulminant sepsis after second-trimester amniocentesis in pregnant women by in vitro fertilization and embryo transfer. *Fetal Diagn Ther*. 2007;22(3):217-20. Epub 2007 Jan 17.
56. Backhouse S. Establishing a protocol for the cleaning and sterilisation/disinfection of ultrasound transducers. *British Medical Ultrasound Society Bulletin* 2003;11:37-9.
57. Abboud P, Zejli A, Mansour G, et al. Amniotic fluid leakage and premature rupture of membranes after amniocentesis. A review of the literature 2000 Dec;29(8):741-745.

58. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Use of Anti-D Immunoglobulin for Rh Prophylaxis. Green-top Guideline No. 22. London: RCOG Press; 2002.
59. Tabor A, Jerne D, Bock JE. Incidence of rhesus immunisation after genetic amniocentesis. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1986 Aug 30;293(6546):533-6.
60. Brandenburg H, Jahoda MG, Pijpers L, Wladimiroff JW. Rhesus sensitization after midtrimester genetic amniocentesis. *Am J Med Genet*. 1989 Feb;32(2):225-6.
61. Crowther CA, Keirse MJ. Anti-D administration in pregnancy for preventing rhesus alloimmunisation. *Cochrane Database Syst Rev*. 2000;(2):CD000020.
62. Lo YM. Fetal RhD genotyping from maternal plasma. *Ann Med*. 1999 Oct;31(5):308-12.
63. Avent ND. RHD genotyping from maternal plasma: guidelines and technical challenges. *Methods Mol Biol*. 2008;444:185-201.
64. Müller SP, Bartels I, Stein W, et al The determination of the fetal D status from maternal plasma for decision making on Rh prophylaxis is feasible. *Transfusion*. 2008 Nov;48(11):2292-301. Epub 2008 Aug 7.
65. Appelman Z, Furman B. Invasive genetic diagnosis in multiple pregnancies. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2005 Mar;32(1):97-103, Review.
66. Sebire M.J, Noble P.L, Odibo A, Single uterine entry for genetic amniocentesis in twin pregnancies. *Lancet* (1996) 47: pp 26-31.



67. Anderson R.L, Goldenberg J.D, Golbus M.S, Prenatal diagnosis in multiple gestation: 20 years' experience with amniocentesis. *Prenat Diagn* (1991) 11: pp 263-270.
68. Antsaklis A, Gougoulakis A, Mesogitis S, Invasive techniques for fetal diagnosis in multiple pregnancy. *Int J Gynaecol Obstet* (1991) 34: pp 309-314.
69. Pruggmayer M, Baumann P, Schutte H, Incidence of abortion after genetic amniocentesis in twin pregnancies. *Prenat Diagn* (1991) 11: pp 637-640.
70. Pruggmayer M.R.K, Jahoda M.G.J, Van der Pol J.G, Genetic amniocentesis in twin pregnancies: results of a multicenter study of 529 cases. *Ultrasound Obstet Gynecol* (1992) 2: pp 6-10.
71. Jeanty P - Single-needle insertion in twin amniocentesis. - *J Ultrasound Med* - 01-SEP-1990; 9(9): 511-7.
72. van Vugt JM, Nieuwint A, van Geijn HP. Single-needle insertion: an alternative technique for early second-trimester genetic twin amniocentesis. *Fetal Diagn Ther.* 1995 May-Jun;10(3):178-81.
73. Cirigliano V, Cañadas P, Plaja A, et al Rapid prenatal diagnosis of aneuploidies and zygosity in multiple pregnancies by amniocentesis with single insertion of the needle and quantitative fluorescent PCR. *Prenat Diagn.* 2003 Aug;23(8):629-33.
74. Yukobowich E, Anteby EY, Cohen SM, et al Risk of fetal loss in twin pregnancies undergoing second trimester amniocentesis. *Obstet Gynecol* 2001;98:231-4.

75. Elias S., Gerbie A., Simpson J.L., Genetic amniocentesis in twin gestations. *Am J Obstet Gynecol* (1980) 138: pp 169-174.
76. Ministero della Sanità. Bollettino di informazione sui farmaci. Circolare Anno XIV n.6 pag. 2, giugno 1990.
77. van der Pol JG, Wolf H, Boer K, et al Jejunal atresia related to the use of methylene blue in genetic amniocentesis in twins. *Br J Obstet Gynaecol*. 1992 Feb;99(2):141-3.
78. Dinger J, Autenrieth A, Kamin G, et al Jejunal atresia related to the use of toluidine blue in genetic amniocentesis in twins. *J Perinat Med*. 2003;31(3):266-8.
79. Fisk M.N., Bryan E., Routine prenatal determination of chorionicity in multiple gestation: a plea to the obstetrician. *Br J Obstet Gynaecol* (1993) 100: pp 975-977.
80. Corsello G, Piro E. The world of twins: an update. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2010 Oct;23 Suppl 3:59-62.
81. Lewi L, Gucciardo L, Van Mieghem T, et al Monochorionic diamniotic twin pregnancies: natural history and risk stratification. *A Revue Fetal Diagn Ther*. 2010;27(3):121-33. Epub 2010 Apr 21.
82. Sepulveda W, Sebina N.J, Hughes K, Evolution of the lambda or twin-chorionic peak sign in dichorionic twin pregnancies. *Obstet Gynecol* (1997) 89: pp 439-441.
83. Monteagudo A, Timor-Tritsch I.E, Sharma S, Early and simple determination of chorionic and amniotic type in multifetal gestations in the first fourteen weeks by high-frequency transvaginal ultrasonography. *Am J Obstet Gynecol* (1994) 170: pp 824-829.

84. Wood S.L, St Orange R, Connors G, Evaluation of the twin peak or lambda sign in determining chorionicity in multiple pregnancy. *Obstet Gynecol* (1996) 88: pp 6-9.
85. Vlietinck R, Derom R, Neale MC, et al Genetic and environmental variation in the birth weight of twins. *Behav Genet*. 1989 Jan;19(1):151-61.
86. Schmidt R, Sobel EH, Nitowsky HM, Dar H, Allen FH Jr. Monozygotic twins discordant for sex. *J Med Genet*. 1976 Feb;13(1):64-8.
87. Perlman EJ, Stetten G, Tuck-Müller CM, et al Sexual discordance in monozygotic twins. *Am J Med Genet*. 1990 Dec;37(4):551-7.
88. Schmid O, Trautmann U, Ashour H, et al Prenatal diagnosis of heterokaryotypic mosaic twins discordant for fetal sex. *Prenat Diagn*. 2000 Dec;20(12):999-1003.
89. Fernández-Martínez FJ, Galindo A, Moreno-Izquierdo A, et al. 45,X/46,XX mosaicism in discordant monozygotic twins. *Pediatrics*. 1983 Mar;71(3):413-7.
90. Grañeras A, Barreiro E. Application of QF-PCR for the prenatal assessment of discordant monozygotic twins for fetal sex. *Prenat Diagn*. 2007 Jul;27(7):648-52.
91. Gilbert B, Yardin C, Briault S, et al. Prenatal diagnosis of female monozygotic twins discordant for Turner syndrome: implications for prenatal genetic counselling. *Prenat Diagn*. 2002 Aug;22(8):697-702.
92. Gonsoulin W, Copeland KL, Carpenter RJ Jr, et al. Fetal blood sampling demonstrating chimerism in monozygotic twins discordant for sex and tissue karyotype (46,XY and 45,X) *Prenat Diagn*. 1990 Jan;10(1):25-8.

93. Nieuwint A, Van Zalen-Sprock R, Hummel P, et al. 'Identical' twins with discordant karyotypes. *Prenat Diagn.* 1999 Jan;19(1):72-6.
94. Gentilin B, Gueneri S, Bianchi V, et al. Discordant prenatal phenotype and karyotype of monozygotic twins characterized by the unequal distribution of two cell lines investigated by different methods: a review. *Twin Res Hum Genet.* 2008 Jun;11(3):352-6.
95. Nieuwint A, Van Zalen-Sprock R, Hummel P, et al. 'Identical' twins with discordant karyotypes. *Prenat Diagn.* 1999 Jan;19(1):72-6.
96. Rohrer TR, Gassmann KF, Rauch A, et al. Growth of heterokaryotic monozygotic twins discordant for Ullrich-Turner syndrome during the first years of life. *Am J Med Genet A.* 2004 Apr 1;126A(1):78-83.
97. Su PH, Chen JY, Chen SJ, et al. 45,X/46,XX mosaicism in a mother and one of her discordant monozygotic twin daughters: report of one case. *Acta Paediatr Taiwan.* 2006 Sep-Oct;47(5):252-4.
98. Costa T, Lambert M, Teshima I, et al. Monozygotic twins with 45,X/46,XY mosaicism discordant for phenotypic sex. *Am J Med Genet.* 1998 Jan 6;75(1):40-4.
99. Dallapiccola B, Stomeo C, Ferranti G, et al. Discordant sex in one of three monozygotic triplets. *J Med Genet.* 1985 Feb;22(1):6-11.
100. Weiss E, Loevy H, Saunders A, et al. Monozygotic twins discordant for Ullrich-Turner syndrome. *Am J Med Genet.* 1982 Dec;13(4):389-99.

101. Al-Awadi SA, Cuschieri A, Farag TI, et al. Ullrich-Turner syndrome in monozygotic twins. *Am J Med Genet.* 1983 Aug;15(4):537-42.
102. Fujimoto A, Boelter WD, Sparkes RS, et al. Monozygotic twins of discordant sex both with 45,X/46,X,idic(Y) mosaicism. *Am J Med Genet.* 1991 Nov 1;41(2):239-45.
103. Helderman-van den Enden AT, Maaswinkel-Mooij PD, Hoogendoorn E, et al Monozygotic twin brothers with the fragile X syndrome: different CGG repeats and different mental capacities. *J Med Genet.* 1999 Mar;36(3):253-7.
104. Tiberio G. MZ female twins discordant for X-linked diseases: a review. *Acta Genet Med Gemellol (Roma).* 1994;43(3-4):207-14.
105. Lawson HW, Frye A, Atrash HK, et al: Abortion mortality, United States, 1972 through 1987. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171:1365.
106. Alfirevic Z, von Dadelszen P. Instruments for chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003;(1):CD000114.
107. Carlin AJ, Alfirevic Z. Techniques for chorionic villus sampling and amniocentesis: a survey of practice in specialist UK centres. *Prenat Diagn* 2008;28:914–19.
108. Giorlandino Claudio *Trattato di diagnosi prenatale e terapia fetale CIC edizioni internazionali Anno 1997.*
109. Jackson LG, Zachary JM, Fowler SE, et al. A randomized comparison of transcervical and transabdominal chorionic-villus sampling. The U.S. National Institute of Child Health and Human Development Chorionic-Villus

- Sampling and Amniocentesis Study Group. *N Engl J Med.* 1992 Aug 27;327(9):594-8.
110. Silver RK, MacGregor SN, Muhlbach LH, et al. A comparison of pregnancy loss between transcervical and transabdominal chorionic villus sampling. *Obstet Gynecol.* 1994 May;83(5 Pt 1):657-60.
  111. Chueh JT, Goldberg JD, Wohlferd MM, Golbus MS. Comparison of transcervical and transabdominal chorionic villus sampling loss rates in nine thousand cases from a single center. *Am J Obstet Gynecol.* 1995 Oct;173(4):1277-82.
  112. Battagliarin G, Lanna M, Coviello D, et al. A randomized study to assess two different techniques of aspiration while performing transabdominal chorionic villus sampling. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009 Feb;33(2):169-72.
  113. Ahmed S. Transabdominal chorionic villus sampling (CVS) for prenatal diagnosis of genetic disorders. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2006 Mar;16(3):204-7.
  114. Saura R, Toutain J, Horovitz J. A freehand ultrasonographically guided technique in transabdominal chorionic villus sampling in more than 24 000 consecutive cases. *Prenat Diagn.* 2010 Apr;30(4):387-8.
  115. Schaap AH, van der Pol HG, Boer K, et al. Long-term follow-up of infants after transcervical chorionic villus sampling and after amniocentesis to compare congenital abnormalities and health status. *Prenat Diagn.* 2002 Jul;22(7):598-604.
  116. Alfirevic Z, Sundberg K, Brigham S. Amniocentesis and chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003;(3):CD003252.

117. Mujezinovic F, Alfirevic Z. Procedure-related complications of amniocentesis and chorionic villous sampling: a systematic review. *Obstet Gynecol*. 2007 Sep;110(3):687-94.
118. Medical Research Council European Trial of Chorionic Villus Sampling: MRC Working Party on the Evaluation of Chorionic Villus Sampling. *Lancet* 1991; 337:1491.
119. Rhoads GG, Jackson LG, Schlesselman SE, et al. The safety and efficacy of chorionic villus sampling for early prenatal diagnosis of cytogenetic abnormalities. *N Engl J Med* 1989; 320:609.
120. Canadian Collaborative CVS-Amniocentesis Clinical Trial Group: Multicentre randomized clinical trial of chorionic villus sampling. *Lancet* 1991; 337:1491.
121. Firth HV, Boyd PA, Chamberlain P, et al. Severe limb abnormalities after chorion villus sampling at 56-66 days' gestation. *Lancet*. 1991 Mar 30;337(8744):762-3.
122. Firth H. Chorion villus sampling and limb deficiency--cause or coincidence? *Prenat Diagn*. 1997 Dec;17(13):1313-30.
123. Firth HV, Boyd PA, Chamberlain PF, et al. Analysis of limb reduction defects in babies exposed to chorionic villus sampling. *Lancet*. 1994 Apr 30;343(8905):1069-71.
124. National Institute of Child Health and Human Development. Report of the NICHD workshop on chorionic villus sampling and limb and other defects. *Am J Obstet Gynecol* 1993;169:1-6..
125. Taylor MJ, Fisk NM: Prenatal diagnosis in multiple pregnancy. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2000; 14:663.





# TECNICHE GENETICHE IN DIAGNOSI PRENATALE 8

## **Introduzione**

Le malattie genetiche sono determinate in modo esclusivo o parziale da un difetto del patrimonio ereditario. Alterazioni importanti possono riguardare il numero o la struttura dei cromosomi (nelle patologie cromosomiche), oppure la struttura e la funzione dei geni (nelle patologie geniche). Altre patologie multifattoriali sono determinate dall'interazione dei geni con l'ambiente.

La Diagnosi Prenatale per la ricerca delle malattie genetiche, può essere definita, in termini generali, come un procedimento finalizzato all'accertamento dell'eventuale presenza nel feto di una condizione patologica geneticamente determinata.

## Quali sono i test genetici e le tecniche di indagine genetica impiegate nella Diagnosi Prenatale?

I test genetici sono quelli applicati per lo studio di specifici geni, del loro prodotto o della loro funzione, oltre ad ogni tipo di indagine del DNA, dell'RNA o dei cromosomi, finalizzata ad individuare o ad escludere mutazioni associate a patologie genetiche<sup>1</sup>.

Quando un test genetico può influenzare le decisioni riproduttive sono indispensabili informazioni complete ed un comportamento non direttivo da parte di chi li gestisce, in modo da garantire il rispetto dei valori e delle convinzioni dell'individuo o della coppia.

Secondo le linee guida ed i riferimenti nazionali<sup>2</sup> i test genetici devono essere preceduti dalla Consulenza Genetica, finalizzata a chiarire significato, limiti, attendibilità e specificità dei test, esplicitata attraverso un complesso processo di comunicazione in cui sono coinvolte anche più figure professionali (Medico, Biologo, specialisti in Genetica Medica)<sup>3,4</sup>.

I/IIA

Il processo informativo mediante la Consulenza Genetica deve sempre precedere ogni esame eseguito in diagnosi prenatale al fine di informare sul significato, limiti ed attendibilità dei test genetici applicati.

## Quali sono le tecniche di citogenetica classica attualmente usate?

L'esame di citogenetica in diagnosi prenatale è finalizzato allo studio dell'assetto cromosomico fetale al fine di studiarne il cariotipo così da individuare eventuali alterazioni, sia spontanee che indotte, numeriche e strutturali, costituzionali od acquisite, in modo da fornire tutte le informazioni possibili al fine di una corretta ed esaustiva diagnosi e successiva consulenza genetica. Limiti e finalità degli esami di citogenetica correlati allo studio

del cariotipo fetale dovranno essere riportati nel consenso informato e discussi in sede di consulenza. Tutti i dati della consulenza ed i risultati dell'esame di citogenetica devono essere trattati seguendo le norme relative alla tutela della riservatezza dei dati sensibili come previsto dal D.Lgs. 30-06-2003 - n.196 (G.U. n.174 s.o., del luglio 2003) ed in ottemperanza a quanto previsto dal Garante della Privacy in merito all'Autorizzazione generale al trattamento dei dati genetici (G.U. n. 65 del 19-03-2007)<sup>2</sup>. L'esame del cariotipo può essere effettuato su diversi tessuti fetali: villi coriali, amniociti o sangue fetale. La scelta del tessuto da esaminare deve essere effettuata sulla base delle informazioni relative alla gravidanza in corso, alle precedenti gravidanze, all'assetto cromosomico della coppia ed ovviamente all'epoca gestazionale<sup>1,5,6</sup>.

### **Esame del cariotipo su liquido amniotico**

Per l'esame del cariotipo da metafasi ottenute da prelievo di liquido amniotico è possibile usare due metodi di coltura: in fiasca e in situ. Per il metodo in "fiasca" devono essere allestite 3 colture primarie. Lo studio del cariotipo deve essere effettuato su almeno 2 delle 3 colture allestite ed esaminando 16 metafasi complessivamente. Per il metodo in "situ" si devono esaminare almeno 10 metafasi, una per ogni clone, provenienti da due o più colture. Qualunque sia il metodo di coltura usato almeno 3 metafasi devono essere usate per la ricostruzione del cariotipo ed almeno 6 per il riconoscimento degli omologhi. Il livello di risoluzione non deve essere inferiore alle 400 bande. In caso di mosaicismo è necessario aumentare il numero di metafasi estendendo l'esame ad altre colture e ricostruendo almeno un cariotipo per linea cellulare. Al fine di definire correttamente il cariotipo fetale può, in alcuni casi, essere necessario effettuare l'esame su un tessuto fetale diverso da quello esaminato. È buona prassi di laboratorio non utilizzare tutte le colture allestite in modo da avere materiale a disposizione per eventuali approfondimenti diagnostici senza dover ripetere il prelievo di cellule fetali<sup>6</sup>.

## **Esame del cariotipo da cellule di villi coriali**

L'analisi di citogenetica su villi coriali si esegue con il metodo così detto "diretto" o "colturale". L'esame diretto consente di studiare le metafasi spontanee del citotrofoblasto dopo un breve periodo di incubazione. L'esame colturale si esegue su metafasi ottenute da colture cellulari allestite disgregando meccanicamente o enzimaticamente il materiale coriale. Per definire correttamente il cariotipo fetale è preferibile usare tutte e due le metodiche e, qualora il materiale non sia sufficiente per l'esecuzione dell'esame, si deve valutare il metodo più affidabile ed eventualmente integrarlo con altre metodiche (QFPCR, FISH)<sup>7-9</sup>.

## **Sui villi coriali (trofoblasto) qual'è l'esame genetico più precoce per determinare il cariotipo di un feto?**

Sulla base dell'esperienza laboratoristica l'esame diretto può essere sostituito dallo studio delle più comuni aneuploidie cromosomiche mediante la tecnica della QFPCR. Tale tecnica deve essere utilizzata contestualmente all'esclusione di contaminazione materna nel campione da esaminare. L'esame del cariotipo invece, deve essere effettuato contando almeno 16 metafasi su preparati ottenuti con le due metodiche con una risoluzione delle tecniche di bandeggio non inferiore alle 300 bande per il metodo diretto e di 400 per l'esame colturale. Almeno 3 metafasi devono essere usate per la ricostruzione del cariotipo ed almeno 6 per per il riconoscimento degli omologhi. Se l'esame mette in evidenza una condizione di mosaicismo cellulare è necessario eseguire un cariotipo per ogni linea cellulare e confrontare i risultati ottenuti con le diverse metodiche utilizzate per l'esecuzione dell'esame. Al fine di definire correttamente il cariotipo fetale può, in alcuni casi, essere necessario effettuare l'esame su un tessuto fetale diverso da quello esaminato. È buona prassi di laboratorio non utilizzare tutte le colture allestite in modo da avere materiale a disposizione per eventuali approfondimenti diagnostici senza dover ripetere il prelievo di cellule fetali<sup>7</sup>.

Sulla base dell'esperienza laboratoristica l'esame diretto della villocentesi può essere sostituito dallo studio delle più comuni aneuploidie cromosomiche mediante la tecnica della QFPCR. Tale tecnica deve essere utilizzata contestualmente all'esclusione di contaminazione materna nel campione da esaminare.

IIB

### **Quando viene eseguito l'esame del cariotipo su linfociti fetali?**

L'esame del cariotipo su sangue fetale viene eseguito solo in presenza di particolari condizioni come: evidenze ecografiche tardive di anomalie morfologiche fetali riconducibili ad anomalie cromosomiche o genetiche; conferma di un mosaicismo cromosomico riscontrato su metafasi da villi coriali o da liquido amniotico. L'esame deve essere effettuato almeno su 16 metafasi 3 delle quali devono essere usate per la ricostruzione del cariotipo ed almeno 6 per il riconoscimento degli omologhi. Il livello di risoluzione deve essere funzionale alla diagnosi da effettuare.

Nei casi di mosaicismo si può estendere l'esame fino a 100 metafasi e può essere utile, ai fini diagnostici, l'integrazione con indagine FISH con sonda cromosoma specifica.

### **Con quale metodologia è possibile attuare una conferma genetica dopo un esito positivo determinato mediante citogenetica classica?**

La tecnica di Ibridazione in Situ a Fluorescenza (FISH) consente di verificare e confermare casi di mosaicismo cromosomico, di identificare riarrangiamenti subcromosomici al di sotto del potere di risoluzione delle tecniche di citogenetica tradizionale e di contribuire alla caratterizzazione di Extra Structural Abnormal Chromosomes (ESACs). Le sonde che si possono usare per fini diagnostici sono diverse: sonde alfoidi per la caratterizzazione degli ESACs, utilizzate anche per la valutazione di bassi

mosaicismi e per alcuni riarrangiamenti che interessano le regioni centromeriche; Sonde painting cromosoma-specifiche sia per caratterizzare ESACs che per il controllo di traslocazioni cromosomiche; Sonde specifiche per patologie da microdelezione o microduplicazione. Multiplex-FISH e Spectral Karyotyping (SKY) per la diagnosi sia di ESACs che per riarrangiamenti complessi<sup>9</sup>.

## **Esiste il rischio di imprinting genomico e quale metodo viene usato per la determinazione?**

### *Analisi della letteratura*

Con il termine di disomia uniparentale (UPD) si indica l'eredità di due cromosomi omologhi da uno stesso genitore. Lo studio della UPD è raccomandato nei mosaicismi cromosomici, nelle traslocazioni reciproche e robertsoniane e nei marcatori soprannumerari che coinvolgono cromosomi in cui sono presenti regione soggette ad imprinting. La UPD è stata dimostrata praticamente per tutti i cromosomi del complemento tranne che per il 19. Allo stato attuale il significato diagnostico in diagnosi prenatale è, purtroppo, chiaro solo per alcuni cromosomi del complemento. A tal fine se ne raccomanda l'esecuzione nelle traslocazioni robertsoniane che coinvolgono i cromosomi 14 e 15; nei mosaicismi che coinvolgono i cromosomi 7, 11, 14 e 15 e markers cromosomici che coinvolgono il cromosoma 15. Da effettuarsi su specifica indicazione del genetista e da valutare caso per caso per i mosaicismi che interessano i cromosomi 2, 6, 16 e 20 oppure a seguito di indicazioni ecografiche riconducibili a patologie legate a disordini dell'imprinting come nella sindrome di Beckwith-Wiedemann<sup>10-14</sup>.

**II B**

Lo studio della UPD è raccomandato nelle traslocazioni robertsoniane che coinvolgono i cromosomi 14 e 15; nei mosaicismi che coinvolgono i cromosomi 7, 11, 14 e 15 e markers cromosomici che coinvolgono il cromosoma 15.

## Qual'è il test più rapido che determina con la quasi assoluta certezza la presenza di un'aneploidia cromosomica?

### *Analisi della letteratura*

Lo sviluppo della genetica molecolare ha determinato negli ultimi anni una vera e propria rivoluzione in campo diagnostico e per quanto riguarda i campi di applicazione della Polymerase Chain Reaction (PCR), procedura di amplificazione del DNA in vitro che permette moltiplicare all'infinito una sequenza specifica di DNA. Tale tecnica molecolare è stata affiancata dall'innovazione tecnologica supportata dall'introduzione di strumentazioni automatiche a tecnologia fluorescente che hanno contribuito ad incrementare la sensibilità e la precisione della PCR facendo sì che la QFPCR (Quantitative Fluorescent Polymerase Chain Reaction) andasse a supportare le tecniche citogenetiche tradizionali per essere impiegata come ausilio diagnostico rapido e mirato delle più importanti aneuploidie fetali (cromosomi 21, 13, 18, X e Y), in sostituzione della tecnica di ibridizzazione fluorescente in situ (FISH)<sup>1,2</sup>. L'utilizzo della QF-PCR per la valutazione rapida delle aneuploidie cromosomiche principali rappresenta un utile screening nei casi in cui si voglia avere una risposta entro 24-48 ore relativamente alle trisomie dei cromosomi 13, 18, 21, X e Y ma è utile anche nei casi di fallimento della coltura cellulare, in caso di referto ecografico dubbio, in gravidanze avanzate e nel riscontro rapido di sindromi polimalformative.

Una QFPCR realizzata con sistemi validamente riconosciuti in cui sono stati realizzati tutti i controlli del caso avendo impiegato un numero di polimorfismi utili a raggiungere una percentuale di attendibilità prossima alla certezza assoluta, può arrivare a risultati non inferiori al 98% di attendibilità<sup>6,8,15-24</sup>.

Una QFPCR realizzata con sistemi validamente riconosciuti e con l'impiego di un numero alto di polimorfismi può arrivare a risultati non inferiori al 98% di attendibilità, così da considerare, dal punto di vista diagnostico, tale tecnica valida.

## **Vi è la possibilità di effettuare lo screening, in diagnosi prenatale, delle malattie genetiche più frequenti ?**

I test genetici possono essere rappresentati sia da test diagnostici, che consentono di effettuare una diagnosi o di confermare un sospetto clinico, che da test che identificano i portatori sani di determinate patologie ereditarie. Entrambi i tipi di test possono essere eseguiti anche in diagnosi prenatale. Prima di accedere ai test genetici bisogna ricorrere, come descritto, alla Consulenza Genetica, cioè un colloquio con un genetista che informi la coppia sui limiti delle indagini, sulle caratteristiche del test e sulle implicazioni dei suoi risultati. Bisogna inoltre essere consapevoli che non sempre i test genetici di cui si dispone sono in grado di assicurare risposte con certezze assolute. Il limite è rappresentato dal fatto che, per alcune patologie, i test disponibili sono ancora poco sensibili. A volte un test genetico prenatale può portare ad un risultato, poco sicuro, in prima analisi, ma meritevole di ulteriori approfondimenti. Gli approfondimenti devono servire a raggiungere una percentuale di certezza più alta possibile e devono essere svolti in tempi possibilmente rapidi, essendo in corso la gravidanza. Queste condizioni devono essere sufficientemente chiare alla coppia che si accinge ad eseguire una diagnosi prenatale. Elementi fondamentali che la coppia deve apprendere:

- a)** limiti delle tecniche impiegate (sensibilità, specificità, ecc);
- b)** effettiva utilità di questi test;
- c)** significato in caso di test genetico positivo e di test negativo.

La coppia deve inoltre essere informata che i tempi rapidi di una diagnosi prenatale potrebbero non consentire di:

- 1.** valutare l'espressività della malattia, per effetto della eterogeneità genetica e allelica;
- 2.** definire la specificità, la sensibilità e il valore predittivo negativo e positivo;



3. definire la “sensibilità clinica”;
4. definire l’utilità clinica.

Le analisi genetiche, generalmente effettuate in caso di indicazione specifica ad una data malattia, o nel caso sia da ricercare lo stato di portatore sano oppure a rischio di una sindrome genetica, possono essere eseguite, dunque, previa sufficiente informazione, anche in diagnosi prenatale. In ragione di ciò, ed una volta effettuata l’amniocentesi per la ricerca delle anomalie cromosomiche fetali, le accurate metodologie molecolari oggi disponibili possono essere applicate per la ricerca anche delle malattie genetiche più frequenti nella popolazione (Fibrosi Cistica, X-Fragile, Sordità Congenita, Distrofia Muscolare di Duchenne) utilizzando lo stesso liquido amniotico o trofoblasto, prelevato per le altre indicazioni, fatte salve tutte le precauzioni già riportate e SOLO dopo avere informato la coppia attraverso una corretta consulenza genetica prima e dopo l’esame<sup>9,15-20,25-32</sup>.

La diagnosi genetica delle patologie più comuni come ad es. la fibrosi cistica, alcune forme di sordità congenita ereditaria (proteine Cx 26 – Cx 30), ritardo mentale legato al sesso (Sindrome di Martin Bell), distrofia muscolare di Duchenne, possono essere eseguite come controllo sul sangue periferico della coppia, allo scopo di identificare i portatori e le gravidanze a rischio. La ricerca delle mutazioni responsabili di tale patologie possono essere effettuate anche in caso di amniocentesi o di villocentesi, purchè la coppia sia sufficientemente informata sui limiti e modalità tecniche delle indagini eseguite.

IIB

L’utilizzo delle cellule fetali su sangue materno per la diagnosi di anomalie genetiche e cromosomiche non deve essere proposto quale alternativa alla diagnosi prenatale invasiva<sup>33-35</sup>.

IIA

## **In diagnosi prenatale esistono ulteriori metodiche che individuino simultaneamente diverse malattie genetiche con grande approssimazione?**

### *Analisi della letteratura*

La tecnica Array-CGH (Array-Comparative Genomic Hybridization) si basa sulla coibridazione del DNA in esame con un DNA di controllo, marcati con fluoro cromi diversi, su un microarray dove sono adese sonde che coprono l'intero genoma. La fluorescenza viene letta attraverso l'uso di uno scanner e rielaborata da un software dedicato.

Tale tecnica potendo analizzare con elevata risoluzione in un unico esperimento tutto il genoma, ha assunto un ruolo fondamentale nell'iter diagnostico post-natale<sup>36</sup>. L'uso invece in diagnosi prenatale è sconsigliato da molti autori per il fatto che l'aCGH, in virtù della sua elevata risoluzione, nel 1-3% dei casi genera dei risultati a significato clinico incerto a causa della presenza di un elevato numero di polimorfismi genomici e dalla difficoltà di correlare il fenotipo all'eventuale riarrangiamento riscontrato<sup>37-41</sup>. Pertanto, nelle linee guida europee viene consigliata l'utilizzo in diagnosi prenatale di sistemi array targettati per l'indagine di un limitato numero di bersagli cromosomici a cui siano associate sindromi note la cui storia naturale sia ben conosciuta (American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) Gruppo Europeo per le linee guida per l'utilizzo dell'array CGH, 2009)<sup>42</sup>. A tale scopo sono stati sviluppati e sono attualmente in commercio test molecolari targettati su supporti solidi o in sospensione su biglie, che sfruttano il principio dell'ibridazione o quello dell'amplificazione mediante PCR (es: aCGH targetted, Prenatal BoBs<sup>TM</sup>, MLPA...) che, a costi medio-bassi e con elevata sensibilità, specificità e riproducibilità (>98%) identificano ed escludono nel genoma fetale in tempi rapidi sbilanciamenti subtelomerici criptici e/o sindromi da microdelezione/microduplicazione che hanno:

- ecografia prenatale silente (o con segni lievi/aspecifici) prima della 26°sdg;

- mortalità e/o morbidità significativa;
- prevalenza alla nascita complessivamente relativamente elevata ( $>1/3.000$ );
- correlazioni genotipo-fenotipo note (no VOUS);
- elevata detection rate: vengono indagate sindromi in cui almeno il 40% dei pazienti mostrano come meccanismo prevalente la delezione (non sono incluse sindromi causate prevalentemente da mutazioni puntiformi e difetti di metilazione).

L'aCGH genome-wide offre la possibilità di analizzare il genoma ad una risoluzione maggiore rispetto al cariotipo convenzionale. Tuttavia la sua applicazione come test diagnostico di screening in ambito prenatale su donne che accedono alla diagnosi invasiva per età materna avanzata, ansietà e aumentato rischio dopo test di screening per la sindrome di Down è sconsigliabile. Questo perché è frequente (1-3%) il riscontro di VOUS alle quali non può essere attribuito un effetto specifico sul fenotipo fetale e che lasciano dubbi interpretativi in fase di consulenza genetica prenatale. Pertanto l'applicazione estesa di questo tipo di analisi comporterebbe un incremento dello stato d'ansia nelle coppie senza possibilità di riconoscere i casi con risultato falso positivo<sup>24,36,39,41,42-49</sup>.

Le società scientifiche mettono in guardia dall'offrire il cariotipo molecolare senza lo studio citogenetico tradizionale sul liquido amniotico in considerazione della impossibilità di dimostrare, con il molecolare, numerosi riarrangiamenti cromosomici<sup>50</sup>.

È consigliabile in aggiunta al cariotipo convenzionale l'applicazione di sistemi targhettati come screening diagnostici che indagano un limitato numero di bersagli cromosomici specifici permettendo la diagnosi rapida e a costi contenuti di sbilanciamenti subtelomerici criptici e microdelezioni/microduplicazioni con significato clinico certo ed ecografia prenatale silente prima della 26°s.d.g. con mortalità e/o morbidità significativa alla nascita.

Sulla base di revisioni della recente letteratura delle conoscenze attuali e delle esperienze dei membri, il comitato della SIGU raccomanda l'esecuzione del cariotipo molecolare (CGH):

- 1) Mai in sostituzione del cariotipo tradizionale;
- 2) Per specifici fini diagnostici in gravidanze selezionate.

## **Con lo stesso liquido amniotico o prelievo di villi coriali è possibile ottenere delle cellule da crioconservare?**

### *Analisi della letteratura*

Le cellule estratte dal liquido amniotico sono state utilizzate come sorgente per la diagnosi prenatale da più di 50 anni. Solo recentemente, intorno agli anni '90, invece si sono avute indicazioni sulla presenza all'interno del liquido amniotico di cellule con elevata capacità proliferativa e differenziativa, le cellule stromali mesenchimali (AF-MSC). Successivamente a questa scoperta è stato effettivamente verificato che esse posseggono caratteristiche simili alle stromali mesenchimali da adulto, verso tipologie cellulari derivanti da tutti e tre i foglietti embrionali<sup>51</sup>.

Queste cellule infatti esprimono marcatori per la pluripotenza, come l'Oct4 e marcatori mesenchimali quali CD29, CD44, CD73, CD90, CD105<sup>52</sup> in grado di differenziarsi in vari tipologie cellulari (adipogenico, osteogenico, muscolare, endoteliale, neurogenico ed epatico). Le cellule staminali da liquido amniotico, con le loro uniche caratteristiche di elevato potenziale differenziativo e di espansione clonale, possono rappresentare una nuova possibile strategia per interventi di terapia cellulare ed anche una minima quantità di liquido amniotico, prelevato durante la procedura di amniocentesi, espanso e successivamente differenziato in vitro, potrà dare origine a tipologie cellulari necessarie per la costruzione di tessuti ingegnerizzati o essere utilizzato per terapie cellulari sia per interventi in prenatale che durante tutta la vita dell'individuo<sup>53-62</sup>.

Vista la letteratura scientifica relativa alla componente cellulare presente nel liquido amniotico che dimostra anche la presenza di una popolazione cellulare di origine mesenchimale, è opinione diffusa tra i ginecologi, che è utile crioconservare un aliquota di liquido amniotico (circa 3 cc), prelevato durante la normale procedura di amniocentesi, per il potenziale utilizzo in medicina rigenerativa, terapia cellulare e genica.

IIB

### **Cellule mesenchimali da Villi Coriali**

Le cellule mesenchimali da villi coriali (CV-MSC), che da parecchi anni stanno suscitando molto interesse nella comunità scientifica vengono espresse in colture primarie da villo coriale mostrando due differenti popolazioni di cellule staminali: cellule a morfologia piccola e tondeggianti e cellule fibroblasto-like. Dopo il primo passaggio le colture mostrano una morfologia omogenea fibroblastoide; tali popolazioni cellulari continuano a proliferare oltre il decimo passaggio in coltura. Dal punto di vista della multipotenzialità delle cellule staminali isolate da villi coriali, queste hanno caratteristiche comparabili, se non in alcuni casi migliori di altre sorgenti di cellule mesenchimali, con elevata capacità proliferativa, differenziativa, risultando potenziale sorgente elettiva e componente cellulare per applicazioni che vanno dalla medicina rigenerativa alla terapia cellulare<sup>63-65</sup>.

## Bibliografia

1. Office of Genomics and Disease Prevention and CDC. Evaluation of Genetic Testing <http://www.cdc.gov/genomics/activities/fbr.htm>. (Accessed 2.12.2005).
2. Comitato Nazionale di Bioetica, Istituto Superiore di Sanità. Linee guida per i test genetici. Linee guida Internazionali sulle questioni etiche in genetica Medica e nei Servizi di Genetica. Organizzazione Mondiale della Sanità, Programma per la Genetica Umana.
3. Autorizzazione al trattamento dei dati genetici - 22 febbraio 2007- Gazzetta Ufficiale n. 65 del 19 marzo 2007.
4. Conferenza Permanente per i Rapporti tra lo Stato e le Regioni e le Province Autonome di Trento e di Bolzano. Linee Guida per le attività di Genetica Medica. 15 Luglio 2004.
5. J Obstet Gynaecol Can. 2006 Mar;28(3):220-50. Pregnancy outcomes after assisted reproductive technology. Allen VM, Wilson RD, Cheung A, Halifax NS.
6. Dequeker E, Cassiman JJ. Genetic testing and quality control in diagnostic laboratories. Nat. Genet. 2000;25:259-60. 12 di 15.
7. Brambati B, Simoni G, Travi M, et al. Genetic diagnosis by chorionic villus sampling before 8 gestational weeks: efficiency, reliability, and risks on 317 completed pregnancies. Prenat Diagn 1992;12:789-99.
8. Adinolfi M, Sherlock J. Prenatal detection of chromosome disorders by QF-PCR. Lancet 2001; 358:1030-1031.

9. Burke W. Genetic testing. *N.Engl.J Med.* 2002;347:1867-75.
10. Liehr T. Cytogenetic contribution to uniparental disomy (UPD). *Mol Cytogenet.* 2010 Mar 29;3:8.
11. Mattes J, Whitehead B, Liehr T, et al. Paternal uniparental isodisomy for chromosome 14 with mosaicism for a supernumerary marker chromosome 14. *Am J Med Genet A.* 2007 Sep 15;143A(18):2165-71.
12. von Beust G, Sauter SM, Liehr T, et al. Molecular cytogenetic characterization of a de novo supernumerary ring chromosome 7 resulting in partial trisomy, tetrasomy, and hexasomy in a child with dysmorphic signs, congenital heart defect, and developmental delay. *Am J Med Genet A.* 2005 Aug 15;137(1):59-64. Review.
13. Bartels I, Schlueter G, Liehr T, von Eggeling F, Starke H, Glaubitz R, Burfeind P. Supernumerary small marker chromosome (SMC) and uniparental disomy 22 in a child with confined placental mosaicism of trisomy 22: trisomy rescue due to marker chromosome formation. *Cytogenet Genome Res.* 2003;101(2):103-5.
14. Giardina E, Peconi C, Cascella R, et al, Bramanti P, Novelli A Multiplex molecular assay for the detection of uniparental disomy for human chromosome 7. *G. Electrophoresis.* 2009 Jun;30(11):2008-11.
15. Blancquaert, I and Caron, L. Fragile X Syndrome: The role of molecular diagnosis and screening in an integrated approach to services. 1-176. 2002. Quebec, Agence d'Evaluation des Technologies et des Modes d' Intervention en Sante (AETMIS).

16. UK Genetic Testing Network. <http://www.ukgtn.org/dossier.html> (Accessed 2.12.2005).
17. Burke W, Zimmern RL. Ensuring the appropriate use of genetic test. *Nat.Rev.Genet.* 2004;5:955-9.
18. Brenner H, Gefeller O. Variation of sensitivity, specificity, likelihood ratios and predictive values with disease prevalence. *Stat.Med.* 1997;16:981-91.
19. Knottnerus JA, Van Weel C. General introduction: evaluation of diagnostic procedures. In Knottnerus JA, ed. *The Evidence Base of Clinical Diagnosis*, pp 1-18. London: BMJ Books, 2002.
20. Mulherin SA, Miller WC. Spectrum Bias or Spectrum Effect? Subgroup Variation in Diagnostic Test Evaluation. *Ann Intern Med* 2002;137:598-602.
21. Cirigliano V, Ejarque M, Canadas MP, et al. Clinical application of multiplex quantitative fluorescent polymerase chain reaction (QF-PCR) for the rapid prenatal detection of common chromosome aneuploidies. *Mol Hum Reprod.* 2001 7:1001-1006.
22. Mann K, Petek E, Pertl B. Prenatal detection of chromosome aneuploidy by quantitative-fluorescence PCR. *Methods Mol Biol.* 2011; 688:207-26.
23. Ochshorn Y, Bar-Shira A, Jonish A, Yaron Y. Rapid prenatal diagnosis of aneuploidy for chromosomes 21, 18, 13, and X by quantitative fluorescence polymerase chain reaction. *Fetal Diagn Ther.* 2006;21(4): 326-31.
24. Hills A, Donaghue C, Waters J, et al. QF-PCR as a stand-alone test for prenatal samples: the first 2 years'



- experience in the London region. *Prenat Diagn.* 2010 Jun;30(6):509-17.
25. Secretary's Advisory Committee on Genetic Testing. *Enhancing the Oversight of Genetic Test, Recommendations of the SACGT.* 1-32. 2000. National Institutes of Health.
  26. Secretary's Advisory Committee on Genetic Testing. *Development of a Classification Methodology for Genetic Test. Conclusions and Recommendations of the Secretary's Advisory Committee on Genetic Testing.* 2001.
  27. Burke W, Atkins D, Gwinn M, et al. Genetic test evaluation: information needs of clinicians, policy makers, and the public. *Am.J Epidemiol.* 2002;156:311-8.
  28. Quality & Safety in Genetic Testing: An Emerging Concern; WHO [http://www.who.int/genomics/policy/quality\\_safety/en/index1.html](http://www.who.int/genomics/policy/quality_safety/en/index1.html) (Accessed 2.12.2005).
  29. Schmitt S, Giraud M, Hary J, Rival JM, Bezieau S, Boisseau P. A faster strategy for prenatal diagnosis of fragile X syndrome. *Prenat Diagn.* 2010 Sep 13.
  30. Xunclà M, Badenas C, Domínguez M, et al. Fragile X syndrome prenatal diagnosis: parental attitudes and reproductive responses. *Reprod Biomed Online.* 2010 Oct;21(4):560-5.
  31. Hill MK, Archibald AD, Cohen J, Metcalfe SA. A systematic review of population screening for fragile X syndrome. *Genet Med.* 2010 Jul;12(7):396-410.
  32. Coffee B. Commentary on population screening for fragile X syndrome. *Genet Med.* 2010 Jul;12(7):411-2.

33. van den Heuvel A, Chitty LS, Hogg J, Marteau TM. Will noninvasive prenatal diagnosis using free fetal nucleic acids in maternal blood erode informed choices? *Prenat Diagn* 2008;28:S16.
34. Marteau TM, Chitty LS, editors. *Fetal sexing: Global Perspectives on Practices, Ethics and Policy*. *Prenat Diagn* 2006;26:597–647.
35. Wright C. *Cell-free Fetal Nucleic Acids for Non-invasive Prenatal Diagnosis*, report of the UK Expert Working Group. Cambridge: PHG Foundation; 2009.
36. Miller DT, Adam MP, Aradhya S, et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet*. 2010 May 14;86(5):749–64.
37. Pergament E. Controversies and challenges of array comparative genomic hybridization in prenatal genetic diagnosis. *Genet Med* 2007;9:596–99.
38. Vermeesch JR, Fiegler H, de Leeuw N, et al. Guidelines for molecular karyotyping in constitutional genetic diagnosis. *Eur J Hum Genet* 2007;15:1105–14.
39. Friedman JM. High-resolution array genomic hybridization in prenatal diagnosis. *Prenat Diagn*. 2009;29:20–28.
40. Vialard F, Molina Gomes D, Leroy B, et al. Array comparative genomic hybridization in prenatal diagnosis: another experience. *Fetal Diagn Ther* 2009;25(2):277–84.
41. Kleiman L, Bianchi DW, Shaffer LG, et al. Use of array comparative genomic hybridization for prenatal

- diagnosis of fetuses with sonographic anomalies and normal metaphase karyotype. *Prenat Diagn.* 2009 Dec;29(13):1213-7.
42. ACOG, Array Comparative Genomic Hybridization in Prenatal Diagnosis Number 446, November 2009:114(5):1161-63.
  43. Basgul A, Kavak ZN, Akman I, et al. Prenatal diagnosis of Wolf- Hirschhorn syndrome (4p-) in association with congenital diaphragmatic hernia, cystic hygroma and IUGR. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2006;33(2):105-6.
  44. Casaccia G, Mobili L, Braguglia A, et al. Distal 4p microdeletion in a case of Wolf-Hirschhorn syndrome with congenital diaphragmatic hernia. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2006 Mar;76(3):210-3.
  45. De Ravel TJ, Devriendt K, Fryns JP, Vermeesch JR. What's new in karyotyping? The move towards array comparative genomic hybridisation (CGH). *Eur J Pediatr.* 2007 Jul;166(7):637-43.
  46. Emanuel BS, Saitta SC. From microscopes to microarrays: dissecting recurrent chromosomal rearrangements. *Nat Rev Genet.* 2007 Nov;8(11):869-83.
  47. Fong KW, Ghai S, Toi A, Blaser S, et al. Prenatal ultrasound findings of lissencephaly associated with Miller-Dieker syndrome and comparison with pre- and postnatal magnetic resonance imaging. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2004 Dec;24(7):716-23.
  48. Krzeminska D, Steinfeld C, Cloez JL, et al. Prenatal diagnosis of Williams syndrome based on ultrasound signs. *Prenat Diagn.* 2009 Jul;29(7):710-2.

49. Lenzini E, D'Ottavio G, Città A, et al. Prenatal diagnosis of Miller-Dieker syndrome by ultrasound and molecular cytogenetic analysis. *Clin Genet.* 2007 Nov;72(5):487-9.
50. Ultrasound in Obstetrics and Gynecology Working Group Italian Society of Human Genetics (SIGU) Position Statement. Microarray application in prenatal diagnosis: a position statement from the working group on behalf of the Italian Society of Human Genetics (SIGU), November 2011).
51. De Coppi P, Bartsch G Jr, Siddiqui MM, et al. Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy. *Nat Biotechnol.* 2007 Jan;25(1):100-6. Epub 2007 Jan 7.
52. Tsai MS, Lee JL, Chang YJ, Hwang SM. Isolation of human multipotent mesenchymal stem cells from second-trimester amniotic fluid using a novel two-stage culture protocol. *Hum Reprod.* 2004 Jun;19(6):1450-6. Epub 2004 Apr 22.
53. Ankrum J and Karp JM. Mesenchymal stem cell therapy: Two steps forward, one step back. *Trends Mol Med.* 2010 May;16(5):203-9.
54. Bossolasco P, Montemurro T, Cova L, et al. Molecular and phenotypic characterization of human amniotic fluid cells and their differentiation potential. *Cell Res.* 2006 Apr;16(4):329-36.
55. Carraro G, Perin L, Sedrakyan S, et al. Human amniotic fluid stem cells can integrate and differentiate into epithelial lung lineages. *Stem Cells.* 2008 Nov;26(11):2902-11.
56. Da Sacco S, Sedrakyan S, Boldrin F, et al. Human amniotic fluid as a potential new source of organ specific precursor

- cells for future regenerative medicine applications. *J Urol*. 2010 Mar;183(3):1193-200.
57. Gucciardo L, Lories R, Ochsenein-Kölble N, et al. Fetal mesenchymal stem cells: isolation, properties and potential use in perinatology and regenerative medicine. *BJOG*. 2009 Jan;116(2):166-72.
  58. Fauza DO. Tissue engineering: current state of clinical application. *Curr Opin Pediatr*. 2003 Jun;15(3):267-71.
  59. Fuchs JR, Kaviani A, Oh JT, et al.. Diaphragmatic reconstruction with autologous tendon engineered from mesenchymal amniocytes. *J Pediatr Surg*. 2004Jun;39(6):834-8.
  60. Kunisaki SM, Jennings RW, Fauza DO. Fetal cartilage engineering from amniotic mesenchymal progenitor cells. *Stem Cells Dev*. 2006 Apr;15(2):245-53.
  61. Kunisaki SM, Fuchs JR, Steigman SA, Fauza DO. A comparative analysis of cartilage engineered from different perinatal mesenchymal progenitor cells. *Tissue Eng*. 2007 Nov;13(11):2633-44.
  62. In 't Anker PS, Scherjon SA, Kleijburg-van der Keur C, et al. Amniotic fluid as a novel source of mesenchymal stem cells for therapeutic transplantation. *Blood*. 2003 Aug 15;102(4):1548-9.
  63. Igura K, Zhang X, Takahashi K et al. Isolation and characterization of mesenchymal progenitor cells from chorionic villi of human placenta. *Cytotherapy* (2004); 6:543-53.

64. Poloni A, Rosini V, Mondini E, et al. Characterization and expansion of mesenchymal progenitor cells from first-trimester chorionic villi of human placenta. *Cytotherapy* (2008); 10(7):690-697.
65. Zhang X, Mitsuru A, Igura K, et al. Mesenchymal progenitor cells derived from chorionic villi of human placenta for cartilage tissue engineering. *Biochemical and Biophysical Research Communications* (2006); 340 944–952.

# SCREENING DELLE MALATTIE METABOLICHE

## **In diagnosi prenatale esistono ulteriori metodiche che individuino simultaneamente diverse malattie genetiche con grande approssimazione?**

L'analisi della letteratura scientifica esistente, utilizzando parole chiave quali: amniotic fluid and prenatal diagnosis; amniotic fluid and amino acids; amniotic fluid and organic acids; amniotic fluid and HPLC, ha prodotto la comparsa di svariate centinaia di articoli. L'esame di quelli inclusi dimostra inequivocabilmente che l'analisi di metaboliti nel liquido amniotico è un metodo di indagine aggiuntivo che permette l'individuazione simultanea di un numero ragguardevole di quelle malattie metaboliche su base genetica note come errori congeniti del metabolismo (ad es. amminoacidopatie, acidurie/acidemie organiche, dismetabolismo di purine e pirimidine, morbo di Canavan, ecc.). Pertanto, la risposta a questo quesito è affermativa e le metodiche basate sull'analisi biochimica del liquido amniotico mediante

tecniche di HPLC, LC/MS e GC/MS rappresentano strumenti fondamentali per evidenziare patologie genetiche altrimenti non diagnosticabili su larga scala<sup>1-4</sup>.

### **È utile eseguire uno screening delle malattie metaboliche sul liquido amniotico?**

In base ad alcune evidenze scientifiche lo screening metabolico per la diagnosi prenatale risulta l'unico sistema analitico, con tempi di risposta rapidi e costo basso-moderato, in grado di essere utilizzato su un numero elevato di campioni per evidenziare con successo campioni anomali con sospetta diagnosi di malattia metabolica<sup>5-8</sup>.

### **Lo screening va effettuato solo in soggetti a rischio (screening ristretto)?**

### **Lo screening ha ragione di essere effettuato in una popolazione a basso rischio (screening allargato)?**

I lavori di letteratura indicano chiaramente che lo screening metabolico sulle popolazioni a rischio è efficace nella diagnosi prenatale di malattia metabolica. Nel caso di popolazioni a basso rischio i dati indicano che è opportuno effettuare screening cosiddetti allargati, quelli cioè che analizzano su ciascun campione il maggior numero possibile di composti utili a diagnosticare un elevato numero di diverse malattie metaboliche. Ad esempio, applicando pannelli analitici utilizzati negli screening neonatali, quindi di già provata efficacia analitica, è possibile effettuare lo screening simultaneo di oltre 40 malattie metaboliche, ciascuna con frequenza media di 1:100.000 nati vivi. Ciò significa che si dovrebbe avere una frequenza media di almeno una diagnosi di malattia metabolica ogni 2.500 campioni prenatali analizzati. Ciò avvicina la frequenza di una diagnosi prenatale di malattia



metabolica a quella di malattie genetiche più note e frequenti (fibrosi cistica, X-fragile, ecc.) per le quali lo screening su popolazioni a basso rischio è in uso da tempo. Pertanto, per i vantaggi ricavabili dagli screening metabolici prenatali, per la presenza di metodiche di comprovata affidabilità (dato il loro uso negli screening neonatali) e per i dati di letteratura la risposta all'esecuzione dello screening ristretto o allargato è di indicare obbligatoriamente lo screening metabolico mirato nelle popolazioni a rischio, e di consigliare fortemente lo screening metabolico allargato nelle popolazioni a basso rischio adottando, cioè, gli stessi criteri che si adottano in ambito neonatale<sup>9-37</sup>.

Sulla base dell'esperienza laboratoristica ed analizzando la letteratura internazionale si può affermare che esistono ulteriori metodiche che individuino simultaneamente diverse malattie genetiche con grande approssimazione eseguendo uno screening delle malattie metaboliche sul liquido amniotico nei riguardi di quelle patologie metaboliche ad incidenza variabile nella popolazione e più rappresentative.

**II B**

## Bibliografia

1. Al-Dirbashi OY, Kurdi W, Imtiaz F, et al. Reliable prenatal diagnosis of Canavan disease by measuring N-acetylaspartate in amniotic fluid using liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Prenat Diagn.* 2009 May;29(5):477-80.
2. Amaral C, Gallardo E, Rodrigues R, et al. (2010) Quantitative analysis of five sterols in amniotic fluid by GC-MS: Application to the diagnosis of cholesterol biosynthesis defects. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 878:2130-2136.
3. Baric I, Wagner L, Feyh P, et al. Sensitivity and specificity of free and total glutaric acid and 3-hydroxyglutaric acid measurements by stable-isotope dilution assays for the diagnosis of glutaric aciduria type I. *J Inherit Metab Dis.* 1999 Dec;22(8):867-81.
4. Bennett MJ, Gibson KM, Sherwood WG, et al. Reliable prenatal diagnosis of Canavan disease (aspartoacylase deficiency): comparison of enzymatic and metabolite analysis. *J Inherit Metab Dis.* 1993;16(5):831-6.
5. Braida L, Crovella S, Boniotta M, et al. A rapid and quantitative mass spectrometry method for determining the concentration of acylcarnitines and aminoacids in amniotic fluid. *Prenat Diagn.* 2001 Jul;21(7):543-6.
6. Cavicchi C, Donati MA, Funghini S, et al. Genetic and biochemical approach to early prenatal diagnosis in a family with mut methylmalonic aciduria. *Clin Genet.* 2006 Jan;69(1):72-6.

7. Chadeaux B, Ceballos I, Rabier D, et al. Prenatal diagnosis of argininosuccinic aciduria by assay of argininosuccinate in amniotic fluid at the 12th week of gestation. *Am J Med Genet.* 1990 Apr;35(4):594.
8. Chadeaux-Vekemans B, Rabier D, Chabli A, Blanc A, et al. Improving the prenatal diagnosis of citrullinemia using citrulline/ornithine+arginine ratio in amniotic fluid. *Prenat Diagn.* 2002 Jun;22(6):456-8.
9. Cheillan D, Salomons GS, Acquaviva C, et al. Prenatal diagnosis of guanidinoacetate methyltransferase deficiency: increased guanidinoacetate concentrations in amniotic fluid. *Clin Chem.* 2006 Apr;52(4):775-7.
10. Chevy F, Humbert L, Wolf C. Sterol profiling of amniotic fluid: a routine method for the detection of distal cholesterol synthesis deficit. *Prenat Diagn.* 2005 Nov;25(11):1000-6.
11. Coker M, Duran M, De Klerk JB, et al. Amniotic fluid odd-chain fatty acids are increased in propionic acidemia. *Prenat Diagn.* 1996 Oct;16(10):941-4.
12. Cyr D, Giguère R, Villain G, et al. A GC/MS validated method for the nanomolar range determination of succinylacetone in amniotic fluid and plasma: an analytical tool for tyrosinemia type I. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2006 Feb 17;832(1):24-9. Epub 2006 Jan 18.
13. Dhondt JL, Tilmont P, Ringel J, Farriaux JP. Pterins analysis in amniotic fluid for the prenatal diagnosis of GTP cyclohydrolase deficiency. *J Inherit Metab Dis.* 1990;13(6):879-82.

14. Fowler B, Jakobs C. Post- and prenatal diagnostic methods for the homocystinurias. *Eur J Pediatr*. 1998 Apr;157 Suppl 2:S88-93.
15. Griffiths WJ, Wang Y, Karu K, et al. Potential of sterol analysis by liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the prenatal diagnosis of Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Clin Chem*. 2008 Aug;54(8):1317-24.
16. Hasegawa Y, Iga M, Kimura M, Shigematsu Y, Yamaguchi S. Prenatal diagnosis for organic acid disorders using two mass spectrometric methods, gas chromatography mass spectrometry and tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2005 Aug 25;823(1):13-7.
17. Hine DG, Hack AM, Goodman SI, Tanaka K. Stable isotope dilution analysis of isovalerylglycine in amniotic fluid and urine and its application for the prenatal diagnosis of isovaleric acidemia. *Pediatr Res*. 1986 Mar;20(3):222-6.
18. Holm J, Ponders L, Sweetman L. Prenatal diagnosis of propionic and methylmalonic acidemia by stable isotope dilution analysis of amniotic fluid. *J Inher Metab Dis*. 1989;12 Suppl 2:271-3.
19. Inoue Y, Ohse M, Shinka T, Kuhara T. Prenatal diagnosis of propionic acidemia by measuring methylcitric acid in dried amniotic fluid on filter paper using GC/MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2008 Jul 15;870(2):160-3. Epub 2008 Mar 4.
20. Inoue Y, Ohse M. Prenatal diagnosis of methylmalonic aciduria by measuring methylmalonic acid in dried amniotic fluid on filter paper using gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*. 2011 Mar 1. [Epub ahead of print].

21. Jakobs C, Dorland L, Wikkerink B, et al. Stable isotope dilution analysis of succinylacetone using electron capture negative ion mass fragmentography: an accurate approach to the pre- and neonatal diagnosis of hereditary tyrosinemia type I. *Clin Chim Acta*. 1988 Feb 15;171(2-3):223-31.
22. Jakobs C, Stellaard F, Kvittingen EA, et al. First-trimester prenatal diagnosis of tyrosinemia type I by amniotic fluid succinylacetone determination. *Prenat Diagn*. 1990 Feb;10(2):133-4.
23. Kamoun PP, Chadefaux B. Eleventh week amniocentesis for prenatal diagnosis of some metabolic diseases. *Prenat Diagn*. 1991 Sep;11(9):691-6.
24. Kelley RI. Prenatal detection of Canavan disease by measurement of N-acetyl-L-aspartate in amniotic fluid. *J Inherit Metab Dis*. 1993;16(5):918-9.
25. Kleijer WJ, Garritsen VH, Linnebank M, et al. Clinical, enzymatic, and molecular genetic characterization of a biochemical variant type of argininosuccinic aciduria: prenatal and postnatal diagnosis in five unrelated families. *J Inherit Metab Dis*. 2002 Sep;25(5):399-410.
26. Kumps A, Vamos E, Mardens Y, et al. Assessment of an electron-impact GC-MS method for organic acids and glycine conjugates in amniotic fluid. *J Inherit Metab Dis*. 2004;27(5):567-79.
27. Mandell R, Packman S, Laframboise R, et al. Use of amniotic fluid amino acids in prenatal testing for argininosuccinic aciduria and citrullinaemia. *Prenat Diagn*. 1996 May;16(5):419-24.
28. Merinero B, Pérez-Cerdá C, Garcia MJ, et al. Reliability of biochemical parameters used in prenatal diagnosis of

- combined methylmalonic aciduria and homocystinuria. *Prenat Diagn.* 1998 Sep;18(9):947-52.
29. Morel CF, Watkins D, Scott P, et al. Prenatal diagnosis for methylmalonic acidemia and inborn errors of vitamin B12 metabolism and transport. *Mol Genet Metab.* 2005 Sep-Oct;86(1-2):160-71.
  30. Ottolenghi C, Abermil N, Lescoat A, et al.. Gestational age-related reference values for amniotic fluid organic acids. *Prenat Diagn.* 2010 Jan;30(1):43-8.
  31. Parvy P, Bardet J, Chadefaux-Vekemans B, et al. Free amino acids in amniotic fluid and the prenatal diagnosis of homocystinuria with methylmalonic aciduria. *Clin Chem.* 1995 Nov;41(11):1663-4.
  32. Rabier D, Chadefaux-Vekemans B, Oury JF, et al. Gestational age-related reference values for amniotic fluid amino acids: a useful tool for prenatal diagnosis of aminoacidopathies. *Prenat Diagn.* 1996 Jul;16(7):623-8.
  33. Rolland MO, Divry P, Mandon G, et al. Early prenatal diagnosis of propionic acidemia with simultaneous sampling of chorionic villus and amniotic fluid. *J Inherit Metab Dis.* 1990;13(3):345-8.
  34. Toone JR, Applegarth DA, Levy HL. Prenatal diagnosis of non-ketotic hyperglycinaemia: experience in 50 at-risk pregnancies. *J Inherit Metab Dis.* 1994;17(3):342-4.
  35. Van Hove JL, Chace DH, Kahler SG, Millington DS. Acylcarnitines in amniotic fluid: application to the prenatal diagnosis of propionic acidemia. *J Inherit Metab Dis.* 1993;16(2):361-7.

36. Wudy SA, Dörr HG, Solleder C, et al. Profiling steroid hormones in amniotic fluid of midpregnancy by routine stable isotope dilution/gas chromatography-mass spectrometry: reference values and concentrations in fetuses at risk for 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999 Aug;84(8):2724-8.
37. Zhang Y, Yang YL, Hasegawa Y, et al. Prenatal diagnosis of methylmalonic aciduria by analysis of organic acids and total homocysteine in amniotic fluid. *Chin Med J (Engl).* 2008 Feb 5;121(3):216-9.





# LA TERAPIA IN UTERO 10

La diagnosi prenatale di patologie che non possono attendere la nascita per essere trattate ha sollecitato gli studi e la messa a punto di tecniche e modalità di trattamento prenatale. Questo può essere molto semplice ed anche molto efficace, com'è il caso del trattamento con steroidi per la maturazione polmonare<sup>1</sup> o di complessità intermedia, come nel caso sia richiesta la sola agopuntura nel caso di trasfusione intravascolare del feto. Tuttavia, nella maggior parte delle situazioni, la terapia fetale prevede un approccio aggressivo dell'unità feto-placentare e richiede competenze specifiche. Non è esente naturalmente da complicanze variabili sulla base della complessità e invasività della procedura. Anche la terapia fetale, come altri ambiti della medicina, vede la chiave della sua validazione negli studi randomizzati e controllati. Questi sono tuttavia molto limitati perché eticamente complessi, non facili da disegnare e finanziare.

## Indicazioni alla chirurgia fetale

### Cenni storici

La chirurgia fetale nasce negli anni '80 (S. Francisco), nella persona di Mickael Harrison<sup>2</sup> chirurgo stimolato dal problema terapeutico legato all'Ernia Diaframmatica Congenita (EDC). Il problema di questi bambini è, infatti, legato più all'ipoplasia polmonare coesistente che al difetto diaframmatico per se. In Europa la diffusione della chirurgia fetale avviene rapidamente, sulla spinta di ostetrici quali Charles Rodeck, al King's College Hospital, divenuto rapidamente un importante centro per la medicina fetale, e in seguito al Kypros Nicolaides all'Harris Birthright Center di Londra. Negli anni '90 la fetoscopia, non solo diagnostica ma soprattutto operativa, si diffonde rapidamente in Europa. Altre patologie fetali si aggiungono all'EDC nella lista delle potenziali candidate al trattamento prenatale.

### Obbiettivi cui deve rispondere

I trattamenti in utero proposti sono essenzialmente due:

- 1) Salvare la vita del feto;
- 2) Prevenire danni permanenti gravi.

La chirurgia fetale agisce, nei casi in cui è indicata, sia attraverso la correzione di un difetto anatomico sia inducendo un arresto della progressione della malattia permettendo di conseguenza il trattamento classico dopo la nascita.

Criteri rigorosi da rispettare per la corretta individuazione delle possibili patologie da trattare chirurgicamente in utero sono chiaramente espressi in un documento di consenso prodotto dall'International Fetal Medicine and Surgery Society (IFMSS) sintetizzato di seguito<sup>3</sup>:

- 1) Possibilità di diagnosi accurata e classificazione in stadi della patologia, in assenza di anomalie associate.
- 2) Storia naturale della malattia ben documentata e prognosi ben dimostrata.

- 3) Assenza di un trattamento post-natale efficace.
- 4) Dimostrata fattibilità della chirurgia in utero sull'animale ed efficacia nel recuperare gli effetti deleteri della patologia in atto.
- 5) Interventi effettuati in centri multispecialistici e multidisciplinari per la chirurgia fetale, all'interno di protocolli ben definiti, con l'approvazione del Comitato Etico e il consenso informato della madre o dei genitori.

Stante queste premesse, le indicazioni alla chirurgia fetale sono oggi quelle di seguito indicate<sup>4</sup>:

Chirurgia fetale	Razionale chirurgia in utero
Ernia diaframmatica congenita	Correzione dell'ipoplasia e prevenzione dell'ipertensione polmonare.
Teratoma sacro-coccigeo	Interruzione del furto ematico, recupero dell'insufficienza cardiaca e del polidramnios.
Lesioni toraciche occupanti spazio	Prevenzione dell'ipoplasia polmonare e/o recupero dell'insufficienza cardiaca.
Ostruzione urinaria bassa	Prevenzione dell'insufficienza renale e dell'ipoplasia polmonare.
Malformazioni cardiache	Prevenzione dell'ipoplasia o interruzione del danno progressivo del cuore.
Mielomeningocele	Ricoprire il midollo spinale esposto, interrompere la perdita continua di liquido cerebro-spinale per prevenire/controlare l'idrocefalo o l'erniazione del cervelletto.

La chirurgia fetale trova applicazioni cliniche anche nel trattamento di patologie placentari, del cordone ombelicale o delle membrane come di seguito riportato.

Chirurgia della placenta	Razionale chirurgia in utero
Gravidanze monocoriali complicate	
Sindrome da trasfusione fetto-fetale (TTTS).	Arresto della trasfusione fetto-fetale e sue conseguenze, prevenire il parto pretermine.
Sequenza di perfusione invertita gemellare (TRAP) e altre anomalie di discordanza.	Prevenire il potenziale danno al secondo gemello.
Sequenza gemellare anemia-policitemia.	In casi selezionati di TTTS e TRAP, correzione del danno cardiaco e del polidramnios.
Arresto di crescita selettivo intrauterino	
Sindrome da bande amniotiche.	Prevenzione di deformità e perdita funzionale.
Corioangioma.	Prevenzione/correzione dell'insufficienza cardiaca, idrope fetto-placentare e polidramnios.

Sono di seguito prese in analisi alcune specifiche indicazioni tra quelle riportate, lasciando momentaneamente da parte le patologie sulla placenta e membrane, perché procedure non dirette sul feto, e quelle cardiologiche.

### Ruolo della chirurgia fetale

Il primo sforzo sperimentale nella storia della chirurgia in utero è stato quello di ottenere un accesso efficace e privo di rischi alla cavità amniotica. Ironicamente questo resta un problema senza fine poiché la rottura postoperatoria delle membrane, e il conseguente parto pretermine, restano il tallone d'Achille di questa procedura, con percentuali riportate tra il 10% (per tecniche fetoscopiche laser) e il 100% (Sindrome da banda amniotica<sup>5</sup>). Il potenziale apporto positivo dell'accesso fetoscopico, più delicato della chirurgia open sul flusso uterino, è evidenziato nella seconda parte degli anni '90<sup>6</sup>.

## Principali indicazioni al trattamento in utero

### Ostruzioni del tratto urinario inferiore:

**Risultato atteso:** Prevenzione ipoplasia polmonare, salvaguardare la funzionalità renale.

**Indicazioni:** Cariotipo normale, oligo/anidramnios (o progressiva e costante riduzione), assenza di altre anomalie associate tali da interferire con la prognosi del feto, valutazioni seriate della funzionalità renale fetale che indichino valori nei limiti di un possibile recupero.

**Tempi di intervento:** legati ai criteri di indicazione, in primis alla comparsa di oligo/anidramnios o a progressiva e costante riduzione del liquido amniotico in presenza di ostruzione del tratto urinario inferiore (valvole dell'uretra posteriore, meno atresia uretrale o sindrome di "prune belly").

**Interventi di reale efficacia:** efficacia certa nessuno. Il più efficace al momento riconosciuto è il posizionamento di uno shunt vescico-amniotico in casi con valvole dell'uretra posteriore.

**Rischi:** depiazzamento dello shunt (40%), parto pretermine (in dipendenza dall'età in cui è eseguito il trattamento in utero), mancato recupero dell'insufficienza renale cronica.

**Preparazione richiesta al team:** Centro multispecialistico e multidisciplinare per la chirurgia fetale; protocolli ben definiti, con l'approvazione del Comitato Etico e il consenso informato della madre o dei genitori.

**Il posizionamento di "shunts" per ostruzione del tratto urinario basso:** si è dimostrato efficace per ristabilire una quantità di liquido amniotico tale da evitare l'ipoplasia polmonare<sup>7</sup> mentre la loro efficacia nel salvaguardare la funzionalità renale è molto dubbia. L'uso di un catetere a doppio 'pig tail' per la derivazione

della vescica fetale nella cavità amniotica ha dimostrato incostanti risultati. I candidati selezionati al trattamento fetale devono:

- Presentare un cariotipo fetale normale.
- L'ecografia deve dimostrare un oligo/anidramnios ovvero una progressiva riduzione del liquido amniotico.
- L'ecografia deve escludere altre anomalie strutturali che possano interferire con la prognosi del feto/neonato.
- Le valutazioni seriate degli elettroliti e del protidogramma delle urine fetali non sono sotto i valori che indica una impossibilità al recupero della funzionalità renale.

Il drenaggio completo della vescica fetale deve essere effettuato ogni 24-48 ore, per tre volte consecutive, per il dosaggio nelle urine fetali di: sodio, cloro, calcio, b2 microglobulina, osmolarità e proteine totali.

### Valori urinari prognostici per la selezione dei feti all'intervento prenatale\*

	Prognosi buona	Prognosi cattiva
Sodio	<90 mmol/L	>100mmol/L
Cloruro	<80 mmol/L	>90mmol/L
Osmolarità	<180 mOsm/L	<200 mOsm/L
Calcio	<7 mg/dL	>8 mg/dL
Proteina totale	<20 mg/dL	>40 mg/dL
Beta 2 microglobulina	<6 mg/L	<10 mg/L

\* basati sull'ultimo campione di urine ottenuto da drenaggio seriale della vesica (x3 o x4) a intervalli di 24/48 ore tra le 18 e la 22 settimana di gestazione.

(da: S. Mann et al<sup>7</sup>: Seminars in Fetal & Neonatal Medicine 15 (2010) 28–33)

L'insieme di queste valutazioni identifica i casi in cui può essere sperata la potenziale salvaguardia della funzionalità renale dunque i feti con potenziale indicazione al trattamento di derivazione vescicale intrauterina. Il depiazzamento dello shunt vescico-amniotico è frequente (circa il 40% dei casi). Le valutazioni ecografiche devono essere eseguite ogni 24-48 ore nella prima settimana e in seguito settimanalmente per il primo mese. Tipicamente il travaglio di parto spontaneo si presenta a 34-35 settimane di gestazione. È in corso un RCT (PLUTO) per valutare il beneficio di uno shunt vescico-amniotico prenatale rispetto al trattamento conservativo di attesa. Una recente casistica retrospettiva su 21 casi sottoposti a shunt prenatale mostra: sopravvivenza ad 1 anno del 91% (2 decessi neonatali per ipoplasia polmonare); funzione renale accettabile (clearance della creatinina  $>70$  mL/min) nel 44%; necessità di trapianto renale nel 34%; scarsa crescita ( $< 25^{\circ}$  centile) nel 66,5%; infezioni urinarie ricorrenti nel 50%. Potenzialità future sono riposte nello sviluppo di tecniche di resezione cistoscopica delle valvole dell'uretra posteriore mediante microcistoscopia e ablazione laser o meccanica. Il maggior vantaggio della tecnica è di mantenere la normale funzione vescicale ciclica ma i risultati preliminari sono ancora controversi. Uno studio recente in merito dimostrerebbe un risultato migliore ( $p < 0.05$ ) in termini di sopravvivenza e funzione renale normale in un gruppo di pazienti trattato con cistoscopia prenatale rispetto ad uno simile trattato conservativamente. Tuttavia si tratta di uno studio non randomizzato, dove i casi trattati conservativamente presentavano in partenza valori di funzionalità renale significativamente peggiore ( $p < 0.05$ ) rispetto al gruppo trattato con microcistoscopia<sup>8</sup>.

## Lesioni Polmonari

**Risultato atteso:** Riduzione della mortalità intrauterina. Permettere la regressione dell'idrope fetale conseguente alla presenza di massa occupante spazio nel torace.

**Indicazioni:** CVR  $>1,6$  e idrope fetale stanti i criteri espressi nella parte generali delle indicazioni alla chirurgia fetale.

**Tempi di intervento:** In dipendenza della comparsa dei criteri clinici (ecografici) che pongono l'indicazione all'intervento in utero.

**Interventi di reale efficacia:** Nessuno "evidence based". Accordo sull'efficacia dello shunt toraco-amniotico nei casi con idrope.

**Rischi:** Rottura precoce delle membrane, Parto pretermine.

**Preparazione richiesta al team:** Centro multispecialistico e multidisciplinare per la chirurgia fetale; protocolli ben definiti, con l'approvazione del Comitato Etico e il consenso informato della madre o dei genitori.

La chirurgia open è selettivamente indicati per casi con Malattia Adenomatoide Cistica Congenita del Polmone (MACCP o CCAM). Il volume della lesione in rapporto alla circonferenza cranica (CVR, CCAM Volume Ratio) è l'indicatore di rischio messo a punto da Cromblehome nel 2002 (9). Quando questo è  $>$  a 1,6 il rischio che il feto sviluppi idrope, come conseguenza della MACCP, supera l'80%. In pazienti con idrope, l'intervento in utero appare giustificato<sup>10,11</sup>. Le MACCP di tipo I (lesioni macrocistiche) possono essere trattate mediante shunt toraco-amniotico e la casistica più ampia in questo proposito (10 casi di MACCP) è quella pubblicata dal Children's Hospital di Philadelphia<sup>12</sup>: l'intervento fetale ha permesso di ridurre il volume della lesione polmonare del 70%, recuperare l'idrope fetale permettendo la sopravvivenza del feto nel 74%. Questi dati di sopravvivenza sono stati confermati più di recente<sup>13</sup>. In quest'ultima "review" sistematica il drenaggio toraco-amniotico nei feti con MACCP ha migliorato la sopravvivenza perinatale dei casi selezionati con idrope fetale ( $p=0.002$ ) mentre non ha mostrato lo stesso significativo risultato nella globalità dei casi.



## Teratoma Sacrococcigeo

**Risultato atteso:** Riduzione del rischio di mortalità. Recupero della sofferenza fetale grave che, attraverso il furto importante di flusso ematico intra lesionale, l'aumento della richiesta di gittata cardiaca, l'aumento delle richieste metaboliche portano ad una insufficienza cardiaca fetale progressiva che si manifesta come polidramnios, idrope e morte fetale.

**Indicazioni:** Idrope fetale, placentomegalia, elevata velocità di crescita della massa tumorale, elevato flusso ematico del tumore.

**Tempi di intervento:** In dipendenza dei parametri ecografici e clinici che ne costituiscono indicazione al trattamento

**Interventi di reale efficacia:** Nessuno “evidence based”. Esperienza molto limitata. In evoluzione altre tecniche volte a controllare gli eventi patogenetici con forme meno invasive di trattamento (laser, termocoagulazione, ablazione con alte frequenze, embolizzazione intravascolare).

**Rischi:** Mortalità fetale, parto pretermine, morbilità a distanza.

**Preparazione richiesta al team:** Centro multispecialistico e multidisciplinare per la chirurgia fetale; protocolli ben definiti, con l'approvazione del Comitato Etico e il consenso informato della madre o dei genitori.

Il teratoma sacrococcigeo non è generalmente responsabile di problematiche prenatali. Tuttavia lesioni molto voluminose, soprattutto a rapida crescita ed elevate necessità metaboliche, vivace vascolarizzazione, shunt arterovenoso intra lesionale con notevole aumento della gittata cardiaca, possono essere responsabili di polidramnios, idrope fetale con esito in morte intrauterina. Inoltre alcune madri possono sviluppare una “mirror syndrome”.

Idrope fetale e placentomegalia, crescita percentuale del tumore<sup>14</sup>, elevata velocità di crescita, sinonimo di elevato flusso ematico e influenza sulla gittata cardiaca (Benachi 2006), sono gli indicatori prognostici su cui selezionare i pazienti a maggior rischio e dunque potenziali candidati al trattamento in utero, poiché questi feti hanno un rischio di mortalità intrauterina del 52%. La chirurgia open è stata riportata dal gruppo di Philadelphia<sup>15</sup> in 5 casi di tipi I (sviluppo del tumore prevalentemente esofitico), ad una età media di 30 settimane di E.G., 4 dei quali sono sopravvissuti a lungo termine (uno trattato a distanza per metastasi polmonari ed un secondo con gravi sequele). Più recenti, quasi aneddotiche, esperienze mirano a trattamenti meno invasivi e volti alla sola interruzione del flusso ematico della lesione mediante laser<sup>16</sup>, termocoagulazione interstiziale<sup>17</sup>, ablazione con radiofrequenze<sup>18</sup>, embolizzazione intravasale con alcool<sup>17,19,20</sup>.

### **Mielomeningocele**

**Risultato atteso:** Miglioramento dell'outcome funzionale e degli esiti a distanza (complesso di Arnold-Chiari, idrocefalo, disfunzione sfinteriale e degli arti inferiori).

**Indicazioni:** Tutte le forme.

**Tempi di intervento:** 19.0-25.9 settimane di EG.

**Interventi di reale efficacia:** Riduzione della necessità di shunt liquorale nel primo anno di vita e miglioramento "dell'outcome" motorio a 30 mesi di vita.

**Rischi:** parto pretermine e rottura dell'utero durante il parto ( $P < 0.001$ ).

**Preparazione richiesta al team:** Centro multispecialistico e multidisciplinare per la chirurgia fetale; protocolli ben definiti,

con l'approvazione del Comitato Etico e il consenso informato della madre o dei genitori.

Si entra nel campo delle lesioni non con rischio vitale ma con obiettivo di miglioramento prognostico e funzionale degli esiti a distanza. Il mileomeningocele (MMC) può essere classificato sulla base della sua estensione e localizzazione. È noto che le forme più gravi sono motivo di danni permanenti molto significativi per la qualità della vita. Studi osservazionali hanno mostrato che la copertura prenatale della lesione midollare riduce l'erniazione del cervelletto, riduce la necessità di shunt per idrocefalo, migliora la funzionalità vescicale e degli arti inferiori così come la neuvoevolutività in senso cognitivo<sup>21-24</sup>. Il "National Institutes of Health (MOMS: Management OF myelomeningocele Study) ha promosso nel 2002 un trial randomizzato negli US che vedeva come obiettivi: 1) primari la mortalità (fetale e neonatale) e la necessità del posizionamento di uno shunt liquorale a 12 mesi di vita; 2) secondario "l'outcome" neurologico e neuro evolutivo a 2 anni e mezzo. Il trial, interrotto in anticipo (183 pazienti rispetto ai 200 pianificati nel trial) ha dimostrato che la chirurgia prenatale del MMC riduce la necessità di shunt per idrocefalo nel primo anno di vita e migliora i risultati motori a 30 mesi di vita ma è associata a rischi sia per la madre che per il feto. In particolare la morte del feto e del neonato o la necessità di no shunt liquorale all'età di un anno sono state osservate nel 68% dei bambini trattati in prenatale contro il 98% di quelli trattati alla nascita ( $P=0.001$ ). La percentuale di shunt posizionati è stata del 40% nel gruppo trattato in prenatale contro l'82% in quello dopo alla nascita ( $P=0.001$ ).

### **Ernia Diaframmatica Congenita**

**Risultato atteso:** Migliorare la mortalità dei casi ad elevato rischio, ridurre l'ipoplasia polmonare e l'ipertensione polmonare.

**Indicazioni:** RCT in corso. EDC sinistra: Feto con  $LHR < 1$ ; OE  $LHR < 1,25$ ; Fegato in torace.

**Tempi di intervento:** 28 settimane di EG (forme severe); 32 settimane di EG (forme intermedie).

**Interventi di reale efficacia:** Occlusione tracheale temporanea con approccio mininvasivo percutaneo (non ancora definiti da RCT).

**Rischi:** Rottura delle membrane, parto pretermine (16,8%).

**Preparazione richiesta al team:** Centro multispecialistico e multidisciplinare per la chirurgia fetale; protocolli ben definiti, con l'approvazione del Comitato Etico e il consenso informato della madre o dei genitori.

Il razionale della chirurgia fetale dell'Ernia Diaframmatica Congenita (EDC) è che la sua storia naturale è ben conosciuta e definita e che esiste un gruppo di pazienti che non sopravvive nonostante il massimo e l'eccellenza delle cure offerte. Questo gruppo a prognosi comunque infausta non è uniformemente definito in termini quantitativi ma è indicato tra il 10% ed il 30% dei casi con EDC<sup>26</sup>. Ciò detto è di primaria importanza la possibilità di identificare questo gruppo ad elevatissimo rischio mediante "markers" prenatali prognostici. I più accettati e riconosciuti oggi sono tre:

- 1) LHR che implica la misurazione, con tecnica standardizzata, del polmone controlaterale alla lesione;
- 2) Expected-Observed LHR (O-E LHR), in cui il valore del LHR è espresso come confronto rispetto a quello atteso per l'età gestazionale. Esprime dunque un valore svincolato e indipendente dall'età gestazionale, elemento questo importante considerando che la terapia in utero è di norma richiesta prima della 30° settimana di E.G;
- 3) Posizione del fegato (Liver Up, LU), marker questo che è sicuramente correlato con la sopravvivenza ma resta controverso come variabile "indipendente"<sup>26</sup>.

L'avvio negli anni '80 della terapia chirurgica "open" presso alcuni selezionati centri nord americani, volta alla chiusura precoce del difetto per permettere al polmone di svilupparsi in utero una volta tolto l'ingombro dei visceri erniati, ha fine nel corso degli anni '90 a seguito di un RCT finanziati dal National Institute of Health. I risultati in termini di sopravvivenza non si dimostrano superiori a quelli del trattamento classico alla nascita; inoltre nel gruppo con terapia in utero, il 21% presenta gravi sequele neurologiche<sup>27</sup>.

La nuova era del trattamento in utero si apre con la constatazione che la ostruzione mediante legatura, della trachea è in grado di contrastare e ricuperare la grave ipoplasia polmonare indotta dalla EDC. Di qui lo sviluppo di numero tecniche e "devices" per procedere alla chiusura chirurgica (clips) od ostruzione endoluminale (plug) della trachea stessa in epoca fetale. Si arriva così alla messa a punto di un palloncino "distaccabile"<sup>28</sup>. Si osserva tuttavia che il tempo in cui il palloncino è lasciato in sede è parte importante del successo terapeutico. In sostanza la permanenza prolungata del palloncino occlusivo permette la crescita polmonare inizialmente. Un effetto dell'occlusione prolungata è tuttavia quello di ridurre in entrambi i polmoni il numero degli pneumociti di tipo II<sup>29</sup> ed il surfattante<sup>30</sup>. Di qui l'avvio dell'occlusione limitata nel tempo, ottenuta mediante la rimozione del palloncino endotracheale, proposta dal gruppo europeo<sup>31</sup>, con risultati di successo ma solo parziali<sup>32</sup>. Studi sperimentali sulla pecora riportano, infatti, che la metodica occlusiva ottimale dovrebbe prevedere un tempo occlusivo di 48 ore seguito da uno detensivo di 1 ora<sup>33</sup> cosa difficilmente ottenibile, al momento, nella pratica clinica e con i "devices" oggi disponibili. La prima occlusione percutanea della trachea nel feto umano, pur senza successo, per inefficacia del "device" sull'effetto occlusivo, è del 2010 (Quintero, 2000). In Europa la FETO (Fetal Endoscopic Tracheal Occlusion) task force definisce la tecnica percutanea: utilizza un accesso percutaneo

di 3,3mm e posiziona un palloncino occlusivo endotracheale amovibile. Questo è inizialmente rimosso alla nascita, utilizzando un approccio EXIT (Ex Utero Intrapartum Treatment)<sup>34</sup>. La rimozione è poi anticipata (per ridurre il danno sugli pneumociti di tipo II) mediante rimozione, ancora durante la vita fetale, dopo 4-6 settimane dal posizionamento, mediante sia puntura ecoguidata del palloncino sia nuova procedura endo-fetoscopica.

Allo stato attuale le indicazioni al trattamento in utero di feti con EDC tengono in considerazione due indicatori di rischio: OE-LHR e LU. In futuro è verosimile che la risonanza magnetica nucleare possa permettere una più rigorosa misurazione del volume polmonare rispetto al LHR (potendo con questa tecnica misurare anche il ridotto volume polmonare del polmone omolaterale al difetto, non misurato con l'LHR, oltre che al volume esatto di fegato erniato nel torace)<sup>35-37</sup>. È anche probabile che, attraverso misure mirate al circolo polmonare, sarà possibile valutare l'Ipertensione Polmonare, seconda importante causa di morte (dopo l'ipoplasia) nei bambini affetti da CDH<sup>38</sup>.

Negli USA, un RCT ultimato a metà degli anni 2000<sup>39</sup> non ha mostrato vantaggi tra occlusione tracheale e trattamento standard, in particolare perché il gruppo trattato con tecnica standard post natale ha mostrato una sopravvivenza inattesa rispetto a quella ipotizzata nell'impostazione dell'RCT.

In Europa, la FETO task force ha riportato il risultato dell'esperienza maturata fino al 2008<sup>40</sup>: parto pretermine entro 3 settimane dalla procedura 16,7%; età gestazionale media al parto 35,3 settimane; parto prima della 34<sup>o</sup> settimana 30,9%. Questi risultati, confrontati con quelli stratificati dal registro prenatale della EDC, mostrerebbero un miglioramento significativo della sopravvivenza sia nei casi selezionati con EDC sinistra severa (dal 24,1% al 49,1%,  $P < 0.001$ ) sia in quelli con EDC destra (da 0% a 35,3%,  $P < 0.001$ ). Gli indicatori più significativi di

sopravvivenza sono l'OE-LHR prima della procedura in utero, l'assenza di PPRM e l'età gestazionale al parto.

È stato avviato anche in Europa un RCT che mette a confronto il trattamento di attesa e chirurgia alla nascita con l'occlusione tracheale tardiva (30-32 settimane di EG) nei feti con EDC con ipoplasia (OE-LHR) moderata. Più recentemente l'RCT è stato avviato anche per i casi con ipoplasia severa, nei quali la procedura di occlusione è prevista alla 28-30 settimana di età gestazionale. Il palloncino è comunque rimosso, in tutti, alla 34° settimana di EG. Il trattamento postnatale è lasciato ai diversi centri di riferimento, sulla base di un "consensus protocol"<sup>41</sup>.

### **Sindrome da trasfusione fetto-fetale (TTTS)**

**Risultato atteso:** Ridurre l'incidenza del parto pretermine (polidramnios), migliorare la sopravvivenza, ridurre il rischio di danno neurologico nei nati vivi.

**Indicazioni:** Classe >3° di Quintero, polydramnios poliurico nel gemello ricevente, oligoidramnios oligurico nel gemello donatore, assenza di anomalie fetali importanti.

**Tempi di intervento:** 22-26 sett. di età gestazionale.

**Interventi di reale efficacia:** Chirurgia endoscopica laser mininvasiva.

**Rischi:** parto pretermine, PROM, leucomalacia periventricolare, complicanze neurologiche.

**Preparazione richiesta al team:** Centro multispecialistico e multidisciplinare per la chirurgia fetale; protocolli ben definiti, con l'approvazione del Comitato Etico e il consenso informato della madre o dei genitori.

La placenta non è “habitat” quotidiano del chirurgo. Questo, unito alla mancanza di modelli sperimentali di TTTS, spiega perché questo tipo di patologia sia entrata tardivamente nella lista delle patologie da considerare per il trattamento in utero. Sviluppo concreto alla tecnica è legato al nome di De Lia<sup>42</sup> che ha usato una mini-laparotomia per esporre l’utero e inserirvi un isteroscopio da 5mm, attraverso una borsa di tabacco. Bisogna tuttavia aspettare la metà degli anni ‘90 per vedere la tecnica applicata con tecnica percutanea ed in anestesia locale. Nel 2004 Eurofetus porta avanti un RCT per il trattamento fetale della TTTS. Lo studio è stato interrotto in anticipo per il risultato significativamente migliore nel gruppo trattato con chirurgia endoscopica più laser. La coagulazione laser dei vasi patologici, messa a confronto con il trattamento di amniodrenaggio, ha dimostrato di migliorare la sopravvivenza in modo significativo (fino 25%) sia a 28 giorni ( $P=0.009$ ) che a 6 mesi di età ( $P=0.002$ ) e di permettere un parto ad una settimana di età gestazionale più avanzata (33,3 contro 29,0 settimane di età gestazionale). Inoltre i feti con trattamento laser hanno mostrato una minor incidenza di leucomalacia periventricolare (6% vs 14%,  $P=0.02$ ) e aumento del numero di bambini liberi da complicanze neurologiche (52% vs 31%,  $P=0.003$ ) a sei mesi di età<sup>43</sup>. Altri studi condotti sul follow up a breve termine mostrano che il 6%-7% di questi bambini presenta problematiche neurologiche sia lievi che severe senza differenze tra donatore e ricevente come pure tra bambini nati singoli o come gemelli<sup>44</sup>. Dati definitivi sull’outcome neurologico dei feti trattati con coagulazione rispetto a quelli trattati con amniodrenaggio non sono al momento disponibili. Danni maggiori sono stati descritti nel 9,5% dopo amnioreduzione, 4,6% dopo trattamento laser e 3,4% dei gemelli dicorionici di controllo<sup>45</sup>.

### Prospettive future

La medicina fetale si sta progressivamente allontanando dalla chirurgia per se, per andare nella direzione di procedure meno



invasive. Grandi sforzi e ricerche sono orientati sulle cellule staminali e sulla terapia genica<sup>46</sup>. Inizialmente queste nuove terapie possono svolgere un ruolo di supporto alla chirurgia. Basti pensare al campo dell'ingegneria tissutale, usando cellule fetali da liquido amniotico. Le cellule staminali, raccolte in corso di amniocentesi (tappa comunque indicata nei bambini con EDC), possono essere coltivate ed utilizzate per la creazione di un "graft" omologo, mentre la gravidanza prosegue ed il feto attende di essere trattato alla nascita. Sono passati ormai 10 anni da quando una matrice di collagene è stata seminata con cellule staminali muscolari<sup>47</sup>. Tutto ciò porta alla creazione in laboratorio di "patches" più funzionali di quanto non siano quelli artificiali oggi utilizzati e, trattandosi di diaframma, è intuitiva l'importanza di una migliore funzionalità.

Sono assolutamente necessari un equilibrio tra le regole e le preoccupazioni volte alla salvaguardia del paziente e lo spazio sufficiente a mantenere l'entusiasmo di nuovi ricercatori e clinici che rappresentano la base pionieristica del futuro. È necessario per questo un numero contenuto di centri "leaders", risorse economiche adeguate, ricerca multispecialistica e trasversale fortemente traslata sulla clinica. Nello stesso tempo le procedure prenatali per indicazioni comuni dovrebbero essere portate più vicine al singolo paziente ma il "dove" e il "chi" è ancora fonte di appassionante discussioni ed una valutazione "evidence-based" è oggi difficile.

### **EXIT (Ex Utero Intrapartum Therapy)**

La chirurgia fetale "open" è praticata molto poco in Europa, dove i centri più avanzati si limitano al trattamento perinatale in supporto del circolo placentare (EXIT). Nata inizialmente per il controllo sicuro delle vie aeree alla nascita nei casi sottoposti ad occlusione tracheale<sup>48,49</sup>, è una tecnica che dovrebbe essere oggi a disposizione dei centri che intendono dedicarsi alla chirurgia fetale<sup>50</sup>. Il tempo che intercorre tra l'induzione dell'anestesia

materna e il clampaggio del cordone sono pianificati di lunghezza sufficiente alle necessità del caso clinico. L'anestesia inalatoria che permette il massimo rilasciamento uterino mantiene il flusso ematico utero-placentare e gli scambi gassosi. Oltre a ciò, l'esteriorizzazione parziale del feto e l'amnio-infusione permettono di mantenere il volume dell'utero entro i limiti della normalità.

Il numero d'indicazioni che possono giovare della tecnica EXIT va crescendo nel corso degli anni e sono di seguito elencate: Ostruzione delle vie aeree per atresia laringea, voluminosi tumori occludenti o occlusione iatrogena della trachea, accesso vascolare per circolazione extracorporea (cardiopatie gravi, CDH severa, gravi masse polmonari o toraciche, gemelli siamesi)<sup>51</sup>. Sono occasionalmente descritte in EXIT anche lobectomie polmonari o resezione di voluminosi teratomi sacro-coccigei. Questo tipo d'indicazione trova tuttavia scarsa applicazione in Europa più a causa di una scelta ponderata del medico che della considerazione che il paziente oggi percepisce della chirurgia "open" in utero.

## Bibliografia

1. Liggins GC, Howie RN. 1972. A controlled trial of antepartum glucocorticoid treatment for prevention of the respiratory distress syndrome in premature infants. *Pediatrics* 50: 515–525.
2. Harrison MR. 2004. The University of California at San Francisco Fetal Treatment Center: a personal perspective. *Fetal Diagn Ther* 19: 513–524.
3. Harrison MR, Filly RA, Golbus MS, et al. 1982. Fetal treatment. *NEngl J Med* 307: 1651–1652.
4. Deprest JA, Done E, Van Mieghem T, Gucciardo L. 2008. Fetal surgery for anesthesiologists. *Curr Opin Anaesthesiol* 21: 298–307.
5. Deprest J, Evrard V, Van Schoubroeck D, Vandenberghe K. 1996a. Fetoscopic cord ligation. *Lancet* 348: 890–891.
6. Luks FI, Peers KH, Deprest JA, et al. 1996. The effect of open and endoscopic fetal surgery on uteroplacental oxygen delivery in the sheep. *J Pediatr Surg* 31: 310–314
7. Mann S, Johnson MP, Wilson RD. 2010. Fetal thoracic and bladder shunts. *Semin Fetal Neonatal Med* 15: 28–33.
8. Ruano R, Duarte S, Bunduki V, et al. 2010. Fetal cystoscopy for severe lower urinary tract obstruction Initial experience of a single centre. *Prenat Diagn* 30: 30–39.
9. Crombleholme TM, Coleman B, Hedrick H, et al. 2002. Cystic adenomatoid malformation volume ratio predicts outcome in prenatally diagnosed cystic adenomatoid malformation of the lung. *J Pediatr Surg* 37: 331–338.

10. Davenport M, Warne SA, Cacciaguerra S, et al. 2004. Current outcome of antenatally diagnosed cystic lung disease. *J Pediatr Surg* 39: 549–556.
11. Wilson RD, Hedrick HL, Liechty KW, et al. 2006. Cystic adenoma- toid malformation of the lung: review of genetics, prenatal diagnosis, and in utero treatment. *Am J Med Genet A* 140: 151–155.
12. Wilson RD, Baxter JK, Johnson MP, et al. 2004. Thoracoamniotic shunts: fetal treatment of pleural effusions and congenital cystic adenomatoid malformations. *Fetal Diagn Ther* 19: 413–420.
13. Knox EM, Kilby MD, Martin WL, Khan KS. 2006. In utero pulmonary drainage in the management of primary hydrothorax and congenital cystic lung lesion: a systematic review. *Ultrasound Obstet Gynecol* 28: 726–734.
14. Westerburg B, Feldstein V, Sandberg P, et al. 2000. Sonographic prognostic factors in fetuses with sacrococcygeal teratoma. *J Pediatr Surg* 35: 322–326.
15. Hedrick HL, Flake AW, Crombleholme TM, et al. 2004. Sacrococcygeal teratoma: prenatal assessment, fetal intervention, and outcome. *J Pediatr Surg* 39: 430–438.
16. Hecher K, Reinhold U, Gbur K, Hackelöcher B-J. 1996. Interruption of umbilical blood flow in an acardiac twin by endoscopic laser coagulation. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 56: 97–100.
17. Makin EC, Hyett J, Ade-Ajayi N, et al. 2006. Outcome of antenatally diagnosed sacrococcygeal teratomas: single-center experience (1993–2004). *J Pediatr Surg* 41: 388–393.

18. Lam YH, Tang MHY, Shek TWH. 2002. Thermocoagulation of fetal sacrococcygeal teratoma. *Prenat Diagn* 22: 99–101.
19. Benachi A, Durin S, Maurer R, et al. 2006. Prenatally diagnosed sacrococcygeal teratoma: a prognostic classification. *J Pediatr Surg* 41: 1517–1521.
20. Perrotin F, Herbreteau D, Machet M, et al. 2006. In utero Doppler ultrasound-guided embolization for the treatment of a large vascular sacrococcygeal teratoma causing fetal hydrops. *Ultrasound Obstet Gynecol* 28: 458–459.
21. Adzick NS. 2010. Fetal myelomeningocele: natural history, pathophysiology, and in-utero intervention. *Semin Fetal Neonatal Med* 5: 9–14.
22. Bruner JP, Tulipan N, Paschall RL, et al. 1999. Intrauterine repair of myelomeningocele, hindbrain restoration and the incidence of shunt-dependent hydrocephalus. *JAMA* 282: 1819–1825.
23. Sutton LN, Adzick NS, Bilaniuk LT, et al. 1999. Improvement in hindbrain herniation by serial fetal MRI following fetal surgery for myelomeningocele. *JAMA* 282: 1826–1831.
24. Danzer E, Gerdes M, Zarnow DM, et al. 2008. Preschool neurodevelopmental outcome of children following fetal myelomeningocele closure. *Am J Obstet Gynecol* 199: S15.
25. N. Scott Adzick, Elizabeth A Thom, et al 2011. A Randomized Trial of Prenatal versus Postnatal Repair of Myelomeningocele *N Engl J Med* 364;11.

26. Jan A. Deprest, Alan W. Flake, Eduard Gratacos et al 2010. The Making Fetal Surgery 30: 653-667.
27. Harrison MR, Adzick NS, Bullard KM, et al. 1997. Correction of congenital diaphragmatic hernia in utero VII: a prospective trial. *J Pediatr Surg* 32: 1637–1642.
28. Deprest J, Evrard V, Flageole H, Vandenberghe K, Lerut T. 1995. Experimental tracheal obstruction for congenital diaphragmatic hernia. *Gynecol Endosc* 4: 3.
29. De Paepe ME, Papadakis K, Johnson BD, Luks FI. 1998. Fate of the type II pneumocyte following tracheal occlusion in utero: a time- course study in fetal sheep. *Virchows Arch* 432: 7–16.
30. O’Toole SJ, Sharma A, Karamanoukian HL, et al. 1996. Tracheal ligation does not correct the surfactant deficiency associated with congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg* 31: 546–550.
31. Flageole H, Evrard VA, Piedboeuf B, et al. 1998. The plug-unplug sequence: an important step to achieve type II pneumocyte maturation in the fetal lamb model. *J Pediatr Surg* 33: 299–303.
32. Davey MG, Hedrick HL, Bouchard S, et al. 2003. Temporary tracheal occlusion in fetal sheep with lung hypoplasia does not improve postnatal lung function. *J Appl Physiol* 94: 1054–1062.
33. Khan PA, Cloutier M, Piedboeuf B. 2007. Tracheal occlusion: a review of obstructing fetal lungs to make them grow and mature. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 145C: 125–138.

34. Deprest J, Gratacos E, Nicolaides KH, et al. 2004. Fetoscopic tracheal occlusion (FETO) for severe congenital diaphragmatic hernia: evolution of a technique and preliminary results. *Ultrasound Obstet Gynecol* 24: 121–126.
35. Cannie M, Jani J, De Keyzer F, et al. 2006. The use of fetal body volume at magnetic resonance imaging to accurately quantify fetal relative lung volume in fetuses with suspected pulmonary hypoplasia. *Radiology* 241: 847–853.
36. Cannie M, Jani J, Chaffiotte C, et al. 2008a. Quantification of intrathoracic liver herniation by magnetic resonance imaging and prediction of postnatal survival in fetuses with congenital diaphragmatic hernia. *Ultrasound Obstet Gynecol* 32: 627–632.
37. Cannie M, Jani J, Meersschaert J, et al. 2008b. Prenatal prediction of survival in isolated diaphragmatic hernia using observed to expected total fetal lung volume determined by magnetic resonance imaging based on either gestational age or fetal body volume. *Ultrasound Obstet Gynecol* 32: 633–639.
38. Moreno-Alvarez O, Cruz-Martinez R, Hernandez-Andrade E, et al. 2010. Lung tissue perfusion in congenital diaphragmatic hernia and association with the lung-to-head ratio and intrapulmonary artery pulsed Doppler. *Ultrasound Obstet Gynecol* 35: 578–582.
39. Harrison MR, Keller RL, Hawgood SB, et al. 2003. A randomized trial of fetal endoscopic tracheal occlusion for severe fetal congenital diaphragmatic hernia. *N Engl J Med* 349: 1916–1924.

40. Jani JC, Nicolaides KH, Gratacos E, et al. 2009. Severe diaphragmatic hernia treated by fetal endoscopic tracheal occlusion. *Ultrasound Obstet Gynecol* 34: 304–310.
41. Deprest JA, Gratacos E, Nicolaides K, et al. 2009c. Changing perspectives on the perinatal management of isolated congenital diaphragmatic hernia in Europe. *Clin Perinatol* 36: 329–347.
42. De Lia JE, Cruikshank DP, Keye WR. 1990. Fetoscopic neodymium: YAG laser occlusion of placental vessels in severe twin-twin transfusion syndrome. *Obstet Gynecol* 75: 1046–1053.
43. Senat MV, Deprest J, Boulvain M, et al. 2004. A randomized trial of endoscopic laser surgery versus serial amnioreduction for severe twin-to-twin transfusion syndrome at midgestation. *N Engl J Med* 351: 136–144.
44. Graef C, Ellenrieder B, Hecher K, et al. 2006. Long-term neurodevelopmental outcome of 167 children after intrauterine laser treatment for severe twin-twin transfusion syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 194: 303–308.
45. Lenclen R, Ciarlo G, Paupe A, et al. 2009. Neurodevelopmental outcome at 2 years in children born preterm treated by amnioreduction or fetoscopic laser surgery for twin-to-twin transfusion syndrome: comparison with dichorionic twins. *Am J Obstet Gynecol* 201: 291.e1–291.e5.
46. Roybal JL, Santore MT, Flake AW. 2010. Stem cell and genetic therapies for the fetus. *Semin Fet Neonat Med* 15: 46–51.



47. Fauza DO, Marler JJ, et al. 2001. Fetal tissue engineering: diaphragmatic replacement. *J Pediatr Surg* 36: 146–151.
48. Liechty KW, Crombleholme TM, Flake AW, et al. 1997. Intrapartum airway management for giant fetal neck masses: The EXIT procedure (ex utero intrapartum treatment). *Am J Obstet Gynecol* 177: 870–874.
49. Mychalishka GB, Bealor JF, Graf JL, et al. 1997. Operating on placental support: The ex utero intrapartum treatment (EXIT) procedure. *J Pediatr Surg* 32: 227–230.
50. Jan A. Deprest, Alan W. Flake, Eduard Gratacos et al. The Making Fetal Surgery. *Prenat Diagn* 2010; 30: 653–667.
51. Kunisaki S, Barnewolt C, Estroff J, et al. 2007. Ex utero intrapartum treatment with extracorporeal membrane oxygenation for severe congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg* 42: 98–106.



# Glossario

---

BRAIN SPARING	Vasodilatazione cerebrale
TIN	Terapia intensiva neonatale
NST	Non-stress test
CVR	CCAM volume ratio
CeDAP	Certificato di Assistenza al Parto
DBP	Diametro biparietale
CC	Circonferenza cranica
HC	Circonferenza Cranica
DFO	Diametro fronto occipitale
DTC	Diametro Trasverso del Cervelletto
NT	Traslucenza nucale

APAD	Diametro antero posteriore
TAD	Diametro trasverso dell'addome
CA	Circonferenza addominale
LF	Lunghezza femore
SNC	Sistema nervoso centrale
MSAFP	Alfa fetoproteina nel siero materno
B-hCG	Subunità beta della gonadotropina corionica umana
uE3	Estriolo non coniugato
PAPP-A	Proteina A plasmatica associata alla gravidanza
CRL	Crown-rump length Lunghezza Vertice-Sacro
DTN	Difetti del tubo neurale
STI	Spatio temporal image correlation
Anti-Ro (SSA)	Anticorpi del gruppo degli anticorpi antinucleo
Anti-La (SSB)	Anticorpi del gruppo degli anticorpi antinucleo
LR	Likelihood ratio
IUGR	Ritardo di crescita intrauterino
RI	Indice di resistenza

PI	Indice di pulsatilità
ARED	Absent/Reverse end diastolic flow scomparsa del flusso diastolico nelle arterie ombelicali e nell'aorta
QF-PCR	Quantitative Fluorescent PCR
TC-CVS	Villocentesi transcervicale
TA-CVS	Villocentesi transaddominale
EA	Early amniocentesis
FISH	Ibridazione in Situ a Fluorescenza
ESACs	Extra Structural Abnormal Chromosomes
SKY	Spectral Karyotyping
UPD	Disomia uniparentale
PCR	Polymerase Chain Reaction
QFPCR	Quantitative Fluorescent Polymerase Chain Reaction
Array-CGH	Array-Comparative Genomic Hybriditation
CV-MSC	Cellule mesenchimali da villi coriali
EDC	Ernia Diaframmatica Congenita
TTTS	Twin-Twin Transfusion Syndrome
TRAP	Twin Reversed Arterial Perfusion

---

MACCP o CCAM	Malattia Adenomatoida Cistica Congenita del Polmone
TTTS	Sindrome da trasfusione feto-fetale
EXIT	Ex Utero Intrapartum Therapy