

# Villocentesi o amniocentesi dopo NIPT(s) alterato?



GIOVANNI MONNI

Già Direttore SC Ostetricia e Ginecologia, Ospedale Microcitemico, Cagliari

Vice Presidente WAPM (World Association of Perinatal Medicine)

Direttore Europa Ian Donald University School of medical Ultrasound

**IN QUESTI ULTIMI ANNI** enormi progressi sono avvenuti in medicina materno-fetale nella prevenzione dei difetti congeniti, delle aneuploidie, delle patologie genetiche e delle malformazioni embrio-fetali.

TABELLA 1

Incidenza ed eziologia dei difetti congeniti gravi

Anomalie	Incidenza %
Trisomie Cromosomiche (21, 18, 13)	0,2
Cromosomopatie diverse dalle Trisomie 21 - 18 - 13	0,4
Microdelezioni e Duplicazioni Patologiche	1,2
Malattie Genetiche Mendeliane	0,4
Anomalie Congenite Strutturali	~ 2.0 - 3.0

Le nuove apparecchiature ultrasonografiche e l'esperienza ecografica degli operatori nell'identificare le malformazioni fetali anche al 1° trimestre di gravidanza (nel 40% dei casi) e al 2° trimestre (50%), i rischi fetali molto bassi e similari tra villocentesi e amniocentesi e sovrapponibili all'abortività nella popolazione generale, nonché gli screening precoci ultrasonografici, biochimici, molecolari e l'introduzione di nuove tecnologie sempre più sofisticate, stanno modificando l'approccio diagnostico e clinico del percorso gravidanza.

Gli screening non invasivi offrono una batteria di esami ultrasonografici (translucenza nucale fetale (NT), osso nasale, rigurgito della tricuspide, velocimetria del dotto venoso), biochimici (PAPP-A+ free beta HCG) e molecolari (NIPT - Non Invasive Prenatal Testing o NIPS - Non Invasive Prenatal Screening) sempre più sensibili nel calcolo del rischio per difetti congeniti fetali (Tabella 2).

TABELLA 2

Sensibilità degli Screening per Cromosomopatie

Test di Screening	Sensibilità %
2° trimestre Tri-test	70
2° trimestre Quadritest	81
1° trimestre NT	80
1° trimestre NT+Markers Biochimici	90
1° trimestre NT+Markers Biochimici e Ecografici	95
NIPT(S) (Trisomie 21 - 18 - 13)	99 - 96 - 92*

\*In 2 - 4% "No result; 20% di Cromosomopatie non riscontrabili con NIPT(S)

Allo stesso tempo le procedure diagnostiche invasive quali la villocentesi e l'amniocentesi eseguite da operatori esperti hanno raggiunto altissimi risultati in termine di successo di prelievo, accuratezza diagnostica e rischi fetali, tanto che, il termine "invasivo" potrebbe essere considerato ormai obsoleto. Nella recente meta-analisi su 2,943 citazioni di Salomon, Ultrasound in Obstetrics and Gynecology 2019, infatti la villocentesi e amniocentesi hanno lo stesso bassissimo rischio di perdita fetale sovrapponibile all'abortività spontanea nella popolazione generale (0,11 - 0,12%) (Tabella 3).

TABELLA 3

Rischio di aborto dopo amniocentesi o villocentesi: review sistematico da 2,943 citazioni in letteratura e meta analisi, Salomon

Procedura di diagnosi invasiva	Rischio abortività%
Amniocentesi	0,12
Villocentesi	0,11

**NON C'È EVIDENZA CHE LA VILLOCENTESI SIA MENO SICURA DELL'AMNIOCENTESI**

Riguardo i test di screening la maggior parte delle Linee Guida nazionali e internazionali sono concordi nell'eseguire prima del NIPT(S) lo screening combinato ultrasonografico e biochimico (NT+Pappa+free beta HCG).

Lo screening combinato (NT+biochimico) all'undicesima settimana (90-95% di sensibilità per tutte le cromosomopatie) ha infatti il grande vantaggio di datare con precisione la gravidanza, valutare la placentazione, lo sviluppo fetale, di evidenziare il vanishing twin, le gravidanze multiple, l'outcome fetale, numerose malformazioni fetali, di porre il sospetto di ulteriori patologie cromosomiche o su base genetica (20% non evidenziabili con il NIPT).

Il NIPT è il test di screening validato per le Trisomie 21, 18, 13 con la più alta sensibilità e il più basso tasso di falsi positivi, non evidenzia il 20% degli altri difetti cromosomici e il 2-4% delle gestanti non ricevono un risultato, il cosiddetto "No result" o "No call".

**I Falsi Negativi dopo NIPT** sono causati da una diminuzione reale o relativa della frazione fetale del DNA e quando questa è sotto il 4% diventa scarsamente attendibile.

La frazione del DNA fetale nel sangue materno, qualora questa si attesti al di sotto del 4%, viene alterata da diversi fattori che possono causare falsi negativi (peso ed età materna, parità, consanguineità, carenza di vitamina B12, malattie autoimmuni, tumori materni, donne dopo trapianto di midollo o di cellule staminali, trasfusioni di sangue, terapie immunologiche, diabete gestazionale, eparina, ovodonazione, gravidanze multiple, donne con Trisomia 21 a mosaico o con traslocazioni bilanciate e soprattutto in caso di vanishing twin).

Per quanto riguarda **i Falsi Positivi dopo NIPT**, la maggiore limitazione è correlata ai mosaicismi confinati alla placenta CPM (*Confined Placenta Mosaicism*) cioè, quando parte dei cromosomi si distribuiscono irregolarmente in placenta e nel feto per una non disgiunzione mitotica. Il mosaicismo confinato alla placenta può essere anche un importante marker di disomia uniparentale. Tutti i test di screening alterati compreso il NIPT devono essere confermati con la villocentesi o con l'amniocentesi e in letteratura numerosi articoli scientifici offrono spesso opinioni controverse riguardo le due procedure invasive utilizzabili come test diagnostico per la maggiore accuratezza e affidabilità dopo NIPT e per offrire alle coppie la possibilità di scelta più opportuna riguardo la prosecuzione o l'interruzione della gravidanza.

## VILLOCENTESI O AMNIOCENTESI DOPO IL NIPT POSITIVO?

Dal momento che il rischio di perdita fetale tra le due tecniche è molto basso e simile, alcuni autori prendono in considerazione l'epoca gestazionale e l'accuratezza diagnostica. La villocentesi transaddominale, procedura eseguibile più precocemente, può essere effettuata in qualsiasi epoca di gravidanza, mentre l'amniocentesi è eseguibile a partire dalla 16<sup>a</sup> settimana.

L'accuratezza diagnostica delle due procedure invasive si può avvalere di diverse analisi di laboratorio, sia citogenetiche tradizionali che molecolari e individuano oltre le Trisomie 21, 18 e 13, le microdelezioni e le duplicazioni cromosomiche e il restante 20% delle cromosomopatie. Inoltre, le tecniche prenatali invasive vanno eseguite dopo il "No result" del NIPT che spesso in questi casi può essere patologico.

Entrambe le tecniche invasive possono utilizzare l'analisi citogenetica tradizionale, la FISH (Fluorescent In Situ Hybridization) e la QF-PCR (Quantitative Fluorescent Polymerase Chain Reaction) e il Microarray.

Il NIPT può dare falsi positivi dovuti principalmente al mosaicismo sia fetale che confinato alla placenta (1-2% dei casi).

Dopo NIPT alterato per Trisomia 21, 18, 13 l'analisi diretta più l'esame colturale nel villo, offre la stessa accuratezza dell'amniocentesi, come pure l'analisi con la QF-PCR più l'analisi colturale dell'amniocentesi.

Un'altra possibile analisi può essere eseguita con la FISH più l'analisi colturale a breve e lungo termine sul villo.

Se il risultato dopo villocentesi con NIPT positivo risulta sempre mosaico, è consigliabile la conferma con amniocentesi utilizzando FISH e cariotipo, anche se il mosaico può non essere confermato nei neonati in una bassa percentuale di casi.

È importante, inoltre, prendere in considerazione l'esame ecografico. Se il NIPT è positivo per Trisomia 21 e sono evidenziate anche malformazioni ecografiche fetali, va eseguita la villocentesi. Nel caso di Trisomie 18 e 13 se l'ecografia non evidenzia malformazioni fetali è preferibile effettuare l'amniocentesi per limitare il possibile errore dovuto al mosaicismo placentare (Tabella 4).

TABELLA 4

Villocentesi o Amniocentesi dopo NIPT(S) alterato per Trisomie 21 - 18 - 13

NIPT(S) Positivo per Trisomie 21	NIPT(S) Positivo per Trisomie 18-13	
	US positivi	US negativi
▼	▼	▼
Villocentesi	Villocentesi	Amniocentesi mosaicismo placentare

## IN CONCLUSIONE

Lo screening dopo NIPT(s) alterato va sempre confermato con la villocentesi o con l'amniocentesi e, pur con alcune discordanze tra gli autori, deve essere dettagliatamente discusso con la coppia durante il counselling ostetrico e/o genetico anche per evitare eventuali contenziosi medico-legali per mancata o limitata informazione.