

PrenatalBook



GUIDA PER LE GESTANTI

Genoma s.r.l.

Sede Principale:

Laboratori e Studi Medici
Via Castel Giubileo, 11 - 00138 RM
Tel. +39 06 8811270 (6 linee)
Fax +39 06 64492025

Sede legale e Studi Medici:

Via Po, 102 - 00198 Roma
Tel. +39 06 85304150
+ 39 06 85358425
Fax. +39 06 85344693

E mail

info@laboratoriogenoma.eu

Sito internet

www.laboratoriogenoma.eu
www.diagnosiprenatale.info



PrenatalBook

Diagnosi Prenatale

GUIDA PER LE GESTANTI



PREMESSA

Decidere se eseguire la diagnosi prenatale (amniocentesi o villocentesi) durante la gravidanza può essere difficile, ma è necessario ricordare che non si deve ricorrere a tali tecniche diagnostiche se non lo si desidera. La diagnosi prenatale dovrebbe essere richiesta solo se le informazioni fornite dall'analisi sono veramente importanti per la coppia, motivazione che rende giustificato il rischio (pur minimo) del prelievo.

Un aiuto per decidere cosa sia meglio fare per monitorare lo stato di salute del feto è sicuramente il colloquio con il proprio ginecologo o il genetista, durante il quale si discutono e si chiariscono i seguenti aspetti:

- Studio sulla possibile malattia genetica per cui viene richiesto l'esame.
- Informazioni riguardanti il rischio che il bambino abbia un difetto genetico che si intende ricercare.
- Il tipo di analisi più adatte al proprio caso ed i risultati ottenibili.
- Informazioni sull'affidabilità dell'analisi.
- I rischi della procedura.
- Il tempo necessario per ottenere i risultati dell'analisi.
- Le modalità di accesso ai risultati degli esami richiesti.
- Le possibilità di cura o le alternative possibili nel caso il bambino risulti affetto da una malattia genetica o cromosomica.
- Le conseguenze sul piano emotivo per la coppia che esegue l'analisi.

Nelle prossime pagine sono riportate informazioni riguardanti le principali tecniche di diagnosi prenatale, l'amniocentesi e la villocentesi. Viene spiegato in cosa consistono queste procedure, quando e come si effettuano, cosa accade dopo il prelievo, i possibili benefici e i rischi correlati.

Le informazioni contenute in questo opuscolo vengono fornite allo scopo di informare preliminarmente i pazienti, in maniera tale che durante il colloquio con lo specialista sia più semplice formulare le domande che riterrete più importanti.

4	Amniocentesi	14	Cariotipo Tradizionale
6	Villocentesi	16	Cariotipo Molecolare
8	Prima del Prelievo	18	Analisi DNA
10	Il Prelievo	24	Analisi Prenatali
12	Dopo il Prelievo	26	GENOMA

Informazioni sull'Amniocentesi

L' AMNIOCENTESI

L'**amniocentesi** è una tecnica invasiva di diagnosi prenatale che consente di effettuare un prelievo di **liquido amniotico** dalla cavità uterina inserendo un ago attraverso l'addome *materno* sotto guida ecografica. Tale liquido contiene in sospensione alcune cellule fetali (*amniociti*) che, poste in un appropriato terreno di coltura, vengono fatte crescere *in vitro* e poi studiate nel loro assetto cromosomico (**cariotipo fetale**) o nel loro DNA, al fine di evidenziare la presenza di eventuali anomalie cromosomiche, o per la diagnosi di eventuali malattie genetiche ereditarie.

COME SI ESEGUE L'AMNIOCENTESI

Il sacco amniotico è la cavità ripiena di liquido (**liquido amniotico**) nel quale il feto è immerso durante la sua crescita in utero. Nel liquido amniotico sono presenti cellule di origine fetale, gli **amniociti**, che sono cellule epiteliali di sfaldamento dei tessuti di rivestimento, derivanti dalle ultime vie urinarie e dalla cute.

Prima dell'amniocentesi viene eseguito un **controllo ecografico** allo scopo di rilevare la vitalità fetale, l'epoca gestazionale e la localizzazione del feto, individuare eventuali gravidanze plurime, evidenziare la localizzazione placentare, la profondità della falda amniotica e la quantità del liquido amniotico.

Si sceglie accuratamente il punto di inserimento dell'ago, in genere lontano dalla placenta ed in prossimità di una tasca di liquido di alcuni centimetri.

L'intervento avviene sempre a paziente supina e senza effettuare alcun tipo di anestesia. Inizialmente si disinfetta accuratamente la cute dell'addome, dall'ombelico al pube, e si delimita il campo d'azione con dei telini sterili. L'operatore, quindi, procederà, all'introduzione, per via transaddominale, di un sottile ago all'interno della cavità amniotica. Tale procedura viene effettuata sotto guida ecografica: il percorso dell'ago viene visualizzato per tutta la procedura e guidato mediante una sonda posta in prossimità dell'ago, opportunamente orientata.

Raggiunta la falda di liquido amniotico, viene tolto il mandrino e si aspira una piccola quantità di liquido, che viene eliminata (per ridurre il rischio di contaminazione materna); successivamente vengono aspirati circa **15 – 20 ml** di liquido amniotico. Il liquido viene poi raccolto in apposite provette sterili ed inviato a temperatura ambiente al laboratorio di genetica per l'esecuzione delle analisi necessarie.

Il prelievo dura circa un minuto ed è praticamente indolore se eseguito da mani esperte. L'introduzione dell'ago provoca solitamente una sensazione trafittiva istantanea a cui può far seguito una lieve dolenzia di breve durata, dovuta a contrazioni localizzate della muscolatura uterina.

EPOCA DI ESECUZIONE

L'esame viene eseguito ambulatorialmente nel secondo trimestre di gravidanza, preferibilmente **fra la 15^a e la 18^a settimana di gravidanza**, allorché l'utero, aumentato di volume, rende la cavità amniotica facilmente raggiungibile. Si ritiene che questo sia il periodo ideale, sia per la presenza di una quantità ottimale di liquido amniotico, che per il riscontro di minori fallimenti colturali dovuti all'elevato numero di cellule fetali presenti nel liquido in quest'epoca. In casi particolari (infezioni da toxoplasmosi o CMV, riscontro di anomalie del feto) la procedura si esegue in settimane successive.

RISCHI DELL'AMNIOCENTESI

Le complicanze più frequentemente osservate dopo l'amniocentesi sono l'aborto e la rottura del sacco amniotico.

Il **rischio di aborto** della tecnica si aggira intorno allo **0,5-1%**. Di tale valore si deve tener conto quando si valuta il rischio/beneficio della procedura diagnostica. Il rischio abortivo va infatti comparato con il rischio di anomalie cromosomiche per l'età della gestante.

La **rottura delle membrane** può occorrere in genere entro 2-3 giorni dall'esame ed appare essere correlata principalmente ad una intrinseca fragilità delle membrane oppure ad infezioni latenti che si riaccendono con il trauma del prelievo. Tale evenienza accade con una incidenza di circa **1 caso su 300** amniocentesi e conduce all'aborto solo in un caso su 3, in quanto nei rimanenti due casi i sintomi si risolvono senza che si verifichino problemi per il proseguimento della gravidanza. Il rischio di complicanze materne nella pratica clinica è essenzialmente rappresentato dall'**amnionite**, che ha in incidenza dello **0,1%**. Se riconosciuta e trattata prontamente non produce in genere effetti dannosi alla madre.

È importante che l'amniocentesi sia eseguita da uno specialista esperto. L'incidenza di aborto e le complicanze sono strettamente legate alla capacità ed all'esperienza dell'operatore, ed il rischio può essere ridotto od aumentato in modo significativo.



Informazioni sulla Villocentesi

LA VILLOCENTESI

La **villocentesi** è una tecnica invasiva di diagnosi prenatale che consente di effettuare un prelievo di villi coriali dalla placenta inserendo un ago attraverso l'addome materno, sotto guida ecografica.

I **villi coriali** rappresentano il tessuto che avvolge l'embrione e che in seguito darà luogo alla placenta. Le cellule di tale tessuto, poste in un appropriato terreno di coltura, vengono fatte crescere *in vitro* e poi studiate nel loro assetto cromosomico o nel loro DNA, al fine di evidenziare la presenza di eventuali anomalie cromosomiche, o per la diagnosi di eventuali malattie genetiche ereditarie.

COME SI ESEGUE LA VILLOCENTESI

Prima della villocentesi si esegue di norma un **esame ecografico** per valutare la vitalità dell'embrione, la biometria (CRL) e la localizzazione del *chorion frondosum* (placenta), allo scopo di scegliere il punto più idoneo per l'inserzione dell'ago.

L'intervento avviene sempre a paziente supina e senza effettuare alcun tipo di anestesia. Inizialmente si disinfetta accuratamente la cute dell'addome, dall'ombelico al pube, e si delimita il campo d'azione con dei telini sterili. L'operatore, una volta localizzato il punto esatto dove intende prelevare il materiale fetale, procederà all'introduzione, per via trans addominale, di un sottile ago, visualizzando il relativo percorso mediante una sonda opportunamente orientata. Quando l'ago giunge al margine del *chorion*, il rapido movimento per circa 10 secondi nello spazio del corionico permetterà di aspirare il materiale fetale.

Tutta la procedura viene seguita direttamente sullo schermo ecografico in "tempo reale". In tal modo si può evidenziare con chiarezza il corretto posizionamento dell'ago e controllare la corretta esecuzione del prelievo.

Il prelievo dura circa un minuto e non è doloroso; la gestante avvertirà solo una puntura e non il fastidio della biopsia.

Il materiale prelevato viene poi raccolto in una provetta a fondo conico ed inviato al laboratorio di citogenetica, dove si effettua, in condizioni sterili sotto cappa a flusso laminare, la separazione ed il lavaggio dei villi, per purificarli dalle contaminazioni (sangue, muco, decidua).

EPOCA DI ESECUZIONE

L'esame viene eseguito ambulatorialmente nel secondo trimestre di gravidanza, preferibilmente **all'11° settimana di gravidanza**. Il prelievo dei villi coriali ha il vantaggio di poter essere eseguito prima dell'amniocentesi, rendendo possibile una diagnosi più precoce di eventuali anomalie cromosomiche o genetiche.

RISCHI DELLA VILLOCENTESI

La complicanza più frequentemente osservata dopo la villocentesi risulta essere l'abortività. Il **rischio di aborto** della tecnica si aggira intorno all'**1%**. Tale rischio, visto l'epoca più precoce di gravidanza in cui viene eseguito il prelievo, si considera simile a quello dell'amniocentesi. Di tale valore si deve tener conto quando si valuta il rischio/beneficio della procedura diagnostica. Il rischio abortivo va infatti comparato con il rischio di anomalie cromosomiche per l'età della gestante.

I rischi materni sono rari. Possono verificarsi perdite di sangue e/o di liquido dai genitali, contrazioni uterine, infezioni intrauterine con febbre.

È importante che la villocentesi sia eseguita da uno specialista esperto. L'incidenza di aborto e le complicanze sono strettamente legate alla capacità ed all'esperienza dell'operatore, ed il rischio può essere ridotto od aumentato in modo significativo.



Prima del Prelievo

ESEGUIRE I SEGUENTI ESAMI CLINICI

(da portare con sé il giorno del prelievo)

- ☐ Gruppo Sanguigno e fattore Rh (entrambi i partners della coppia, se gestante RH negativa)
- ☐ Emocromocritometrico*
- ☐ HbsAg*
- ☐ HCV*
- ☐ HIV (consigliabile ma non obbligatorio)*
- ☐ Ecografia del primo trimestre
- ☐ Eventuali ecografie già eseguite in gravidanza
- ☐
- ☐

* La data di esecuzione di tali esami non deve superare i tre mesi antecedenti la data del prelievo.

Qualora il **fattore Rh** della gestante risultasse **negativo** e quello del partner positivo, si dovrà procedere nel seguente modo:

- ☐ eseguire un **test di Coombs** indiretto sul sangue materno (se già eseguito, l'esame non deve essere antecedente ai 30 giorni dalla data prevista per l'amniocentesi), e portarlo con sé;
- ☐ acquistare in farmacia (con ricetta medica) una fiala di **Immunoglobuline Anti-D** (Igamad 1500 UI o in alternativa Partobulin 1250 UI o ImmunoRho 300mg, da conservare in frigorifero e da portare con sé il giorno del prelievo. Acquistare la fiala con qualche giorno di anticipo perché potrebbe non essere facile reperirla nelle farmacie e va ordinata. In caso di difficoltà si può reperire anche presso la farmacia vaticana (con il nome di Rhophilac).
- ☐

EFFETTUARE LA SEGUENTE TERAPIA FARMACOLOGICA

Salvo differenti indicazioni del ginecologo curante, se si effettua l'**Amniocentesi**:

- ☐ **Semel** compresse, 1 compressa la sera prima dell' esame, da ripetere la mattina dopo 12 ore.
Da continuare alla posologia di 1 compressa ogni 12 ore per 1 settimana;
- ☐ **Zitromax** compresse, 1 compressa dalla sera prima dell' esame (a stomaco pieno) e per le 2 sere successive.
- ☐

Se si effettua la **Villocentesi**:

- **Zitromax** compresse, 1 compressa dalla sera prima dell' esame (a stomaco pieno) e per le 2 sere successive.
- ☐

AVVERTENZE

- Prima dell' assunzione dei farmaci, consultare il proprio ginecologo e/o medico curante per escludere allergie ed intolleranze. La terapia non va seguita in caso di nota o sospetta intolleranza ai suoi principi attivi. Nel caso in cui il suo medico curante prescriva altre terapie, segua scrupolosamente le sue prescrizioni.
- non serve la vescica piena, mantenere un lieve riempimento vescicale (non urinare immediatamente prima di essere chiamati per la procedura).
- non serve essere a digiuno.
- è preferibile sospendere 3 giorni prima e per 3 giorni dopo l'esame sia l'assunzione di eparina a basso peso molecolare, cardioaspirina, e aspirinetta.
- Se si assumono altri farmaci (eccetto progestosterone, ferro, acido folico e vitamine) avvertire il centro al momento della prenotazione.



Il giorno del Prelievo

COLLOQUIO PRELIMINARE CON IL GINECOLOGO ED ECOGRAFIA



Una volta giunta al Centro di Diagnosi Prenatale, la paziente verrà indirizzata al ginecologo di accettazione per il **colloquio preliminare** e l'**ecografia** di controllo.

Nel corso del **colloquio**, verrà compilata una scheda clinica con i dati anagrafici e clinici della paziente, verrà presa visione dei risultati degli esami preliminari, sarà valutata la storia clinica della paziente, prospettata la strategia diagnostica più idonea, illustrate le procedure e i rischi correlati, e infine verranno fornite le informazioni sui costi.

Contestualmente sarà necessario che la paziente comunichi quale tipo di esame vuole effettuare, e cioè:

- la diagnosi prenatale **tradizionale**;
- la diagnosi prenatale **molecolare** (*cariotipo molecolare array-CGH*); o
- la diagnosi prenatale **Genetica** (*con studio del DNA*).

Il genetista del centro sarà a disposizione dei pazienti per discuterne sul tipo di esame più appropriato al caso specifico.

Prima di procedere al prelievo, verrà effettuata alla paziente un'accurata **ecografia**, al fine di valutare se preesistono o coesistono problematiche per le quali non sia opportuno procedere all'indagine invasiva. Il prelievo verrà eseguito soltanto se il controllo ecografico non metterà in evidenza particolari rischi aggiuntivi (scarso liquido amniotico, distacchi di placenta, etc.).

Come previsto dalle attuali disposizioni legislative, durante questa visita sarà richiesto alla paziente di sottoscrivere un documento, chiamato **consenso informato**, che riassume i temi che sono stati oggetto di discussione nel colloquio. La normativa vigente impone infatti al medico di informare verbalmente e per iscritto il paziente su rischi e benefici di ogni procedura invasiva, a cui dovesse sottoporsi.

Prima del prelievo la paziente avrà la possibilità di rivolgere tutte le domande che riterrà utili all'equipe medica. In particolare, si avrà la possibilità di approfondire le modalità e le implicazioni del prelievo, prima di decidere se sottoporsi o meno sottoporsi all'indagine.

IL PRELIEVO

Dopo il controllo, la paziente verrà invitata ad accomodarsi nella stanza adibita ad **ambulatorio chirurgico** per effettuare l'amniocentesi o la villocentesi. Il prelievo non è doloroso, dura dai 10 ai 20 secondi.

Il ginecologo del Centro ha un'esperienza vastissima in prelievi di liquido amniotico e biopsia di villi coriali.

Al termine della procedura viene eseguito un **controllo ecografico** al fine di valutare la vitalità del feto ed il suo battito cardiaco, la quantità residua di liquido amniotico e la eventuale presenza di ispessimenti zonali del miometrio. Se necessario, la gestante si potrà accomodare in una stanza dove potrà restare sdraiata su di un lettino.

Infine, se richiesto, nella fase di dimissione, il ginecologo potrà produrre alla gestante un certificato medico per i giorni di riposo necessari.



Il giorni successivi al Prelievo

COSA FARE DOPO IL PRELIEVO

Dopo la dimissione, la paziente potrà poi tornare al proprio domicilio senza alcuna particolare terapia. Nei 3-4 giorni successivi al prelievo, è consigliabile il riposo domiciliare, evitando di sollevare pesi e/o effettuare sforzi.

Si tenga presente che piccoli disturbi sono del tutto normali.

Per i giorni successivi al prelievo, la gestante potrà fare riferimento per qualsiasi necessità al ginecologo del Centro.



PER CONOSCERE I RISULTATI DEGLI ESAMI



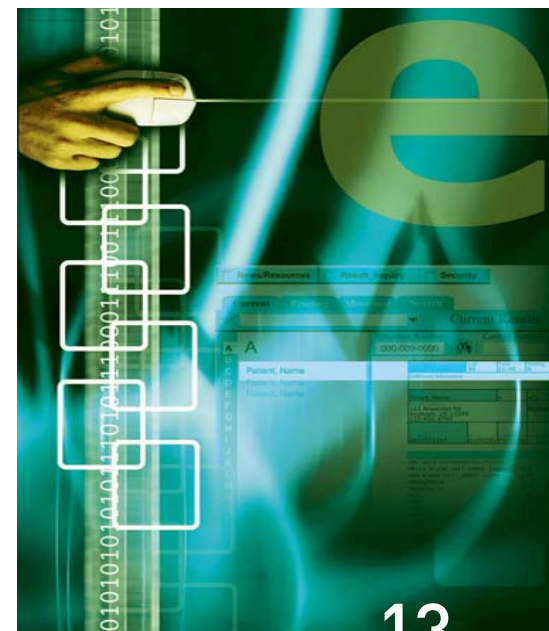
Le date di consegna dei referti saranno comunicate al momento della dimissione e riportate nella cartellina contenente la descrizione della procedura, che verrà fornita prima dell'uscita al desk della hall di accettazione.

Per conoscere gli esiti degli esami, telefonare al numero:

.....

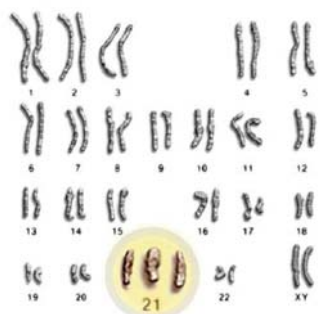
E-mail

Qualora la Paziente desideri ricevere il referto via e-mail, potrà farne richiesta al momento dell'accettazione, comunicando l'indirizzo al quale desidera sia effettuato l'invio.



Il Cariotipo Tradizionale in diagnosi prenatale

IL CARIOTIPO TRADIZIONALE



L'obiettivo principale in diagnosi prenatale è rappresentata dallo studio del corredo cromosomico fetale mediante l'analisi del **cariotipo**, al fine di evidenziare la presenza di eventuali alterazioni cromosomiche, sia numeriche (quali trisomie, monosomie e presenza di un marcatore), che strutturali (traslocazioni, delezioni ed inversioni). Le malattie provocate dalle anomalie cromosomiche sono tra le più importanti cause di abortività, di morte fetale o malformazioni congenite.

L'associazione a tutti nota tra età materna avanzata e rischio di non disgiunzione cromosomica è ben documentata ed i dati epidemiologici riguardano non solo la **Trisomia 21** o **Sindrome di Down**, la più frequente anomalia cromosomica riscontrabile alla nascita, ma anche le aneuploidie a carico dei cromosomi **18** (**Trisomia 18** o **Sindrome di Edwards**), **13** (**Trisomia 13** o **Sindrome di Patau**), e dei cromosomi sessuali (**X** e **Y**), quali la **Sindrome di Turner** o **Monosomia X** e la **Sindrome di Klinefelter**, dovuta alla presenza di un cromosoma X in più nei maschi.

Per la determinazione del cariotipo con tecnica **tradizionale** è necessaria la **coltura** delle cellule fetali, ricavate dal liquido amniotico o dai villi coriali, e la successiva valutazione dell'assetto cromosomico tramite l'analisi al microscopio dei cromosomi in metafase. Le colture cellulari, necessarie per lo sviluppo delle colonie di cellule fetali, purtroppo, implicano tempi di attesa che si aggirano intorno ai **15-20 giorni**.

Il nostro Centro offre la possibilità di ottenere una **risposta rapida** (in sole **24/48 ore**) sulle aneuploidie cromosomiche più comuni (cromosomi **13, 18, 21, X e Y**), mediante una tecnica molecolare avanzata di amplificazione genica denominata **Quantitative Fluorescent - Polymerase Chain Reaction (QF-PCR)**. Tali risultati, tuttavia, sono **parziali** e comunque necessitano di una conferma dal cariotipo.

Nel caso di cariotipo da **villi coriali**, oltre alla coltura cellulare, si utilizza anche il metodo di analisi cromosomica cosiddetto "**diretto**", con il quale si esaminano le divisioni spontanee delle cellule (che si possono ottenere più rapidamente rispetto alle cellule in coltura), riuscendo così a fornire dei risultati preliminari entro **48-72h**, che comunque devono essere confermati dal cariotipo ottenuto dalla coltura prolungata.



Nel caso di cariotipo da **liquido amniotico**, una parte del campione viene utilizzata per il dosaggio dell'**Alfa Feto Proteina (AFP)**, sostanza prodotta dal feto che risulta elevata in presenza di alcune anomalie fetali quali, ad esempio, la **spina bifida** (malformazione della colonna vertebrale) e l'**onfalocelo** (malformazione dell'addome). Il riscontro di alte concentrazioni di AFP nel liquido amniotico è indicativo unicamente della necessità di eseguire un attento esame ecografico della morfologia fetale.

La **citogenetica tradizionale**, pur utilissima nell'individuare un gran numero di anomalie cromosomiche, numeriche e strutturali, è necessariamente **limitata** nelle sue possibilità diagnostiche da difficoltà tecniche e dal potere di risoluzione del microscopio.

Rischio di mancanza di crescita della coltura

A volte è possibile che le cellule poste in coltura non crescano adeguatamente, con conseguente necessità di ripetizione del prelievo al fine di allestire nuove colture cellulari. Questo problema è ben conosciuto, sebbene

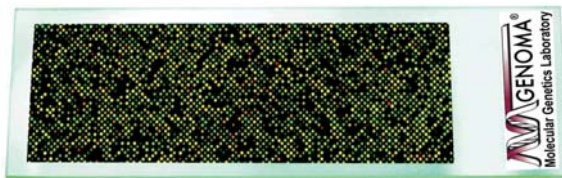
non sia molto frequente; avviene infatti **1 volta su 500** in caso di cariotipo da liquido amniotico e **1 volta su 100** in caso di cariotipo da villi coriali.

Limiti di accuratezza dell'esame

Il cariotipo tradizionale, pur mettendo in evidenza le principali anomalie cromosomiche, presenta tuttavia dei **limiti di accuratezza**. Con tale esame, infatti, si indaga essenzialmente su quelle forme patologiche che interessano il numero e l'aspetto grossolano dei cromosomi. Nulla si potrà sapere su un elevato numero (sebbene rare) di piccole alterazioni dei cromosomi (**microdelezioni** o **microduplicazioni**), che il più delle volte sfuggono alla diagnosi.

Il Cariotipo Molecolare in diagnosi prenatale

IL CARIOTIPO MOLECOLARE (ARRAY-CGH)



Grazie ai recenti progressi della citogenetica molecolare è adesso possibile esaminare i cromosomi in maniera più approfondita ed accurata, utilizzando il cosiddetto **Cariotipo Molecolare**, procedura diagnostica che

impiega una tecnica molecolare innovativa conosciuta come **array-CGH**.

Risultati in soli 3 giorni

Essendo una tecnica molecolare, che non necessita di coltura cellulare, con il Cariotipo Molecolare è possibile ottenere un'analisi cromosomica approfondita in soli **2-3 giorni**, a differenza dei 15-20 giorni necessari con la tecnica tradizionale, riducendo al minimo i tempi di attesa dei risultati.

Un vantaggio non trascurabile che consente di:

- Escludere una patologia cromosomica entro pochi giorni dal prelievo;
- Ridurre l'ansietà della gestante;
- Gestire in largo anticipo un'eventuale intervento terapeutico, in caso di risultato patologico.

Esame approfondito dei cromosomi

Rispetto all'esame citogenetico tradizionale, l'analisi molecolare dei cromosomi ha una **risoluzione molto più elevata** (~100 volte). Ciò consente di identificare alcune patologie derivanti da alterazioni cromosomiche submicroscopiche, non evidenziabili tramite il cariotipo tradizionale, aumentando sensibilmente l'**accuratezza** dell'esame.

Il cariotipo molecolare, infatti, consente di studiare anche un gruppo di **100 patologie** causate da **microdelezione / microduplicazione** cromosomica (es. *Sindrome di DiGeorge*, *la Sindrome di Williams*, *la Sindrome di Prader-Willi/Angelman*) ed oltre **150 geni**.

Inoltre, grazie ad una sofisticata **analisi bioinformatica**, si ha la possibilità di definire con esattezza non solo la regione genomica alterata ma anche i geni in essa contenuta, permettendo così di verificare la patogenicità dell'anomalia cromosomica riscontrata e valutare le conseguenze cliniche.

Il cariotipo molecolare rappresenta, inoltre, la tecnica ideale di **approfondimento diagnostico** di 2° livello, eseguita per integrare l'analisi citogenetica prenatale con tecnica tradizionale, ed

è particolarmente indicato nei casi di:

- **difetti dello sviluppo fetale** evidenziati tramite ecografia, riconducibili ad una patologia cromosomica, il cui cariotipo tradizionale è però risultato normale;
- **feto con anomalie cromosomiche** individuate attraverso l'analisi citogenetica tradizionale (riarrangiamenti sbilanciati, riarrangiamenti *de novo* apparentemente bilanciati e *markers*).

Risultato assicurato

L'**Array-CGH** è una metodica molecolare che non necessita di coltura cellulare, quindi non è soggetta al rischio di mancata crescita e, di conseguenza, di ripetizione del prelievo, garantendo un risultato in quasi la totalità dei casi.



Diagnosi Prenatale con analisi del DNA

LA DIAGNOSI PRENATALE GENETICA (STUDIO DNA)

Da qualche anno, in considerazione della frequenza di alcune malattie genetiche ereditarie, è invalso l'uso di valutarne alcune sullo stesso campione che viene utilizzato per l'esame dei cromosomi.

La **Diagnosi Prenatale GENETICA**, con studio del DNA, consiste nell'effettuare nel feto, oltre all'esame del cariotipo tradizionale o molecolare, anche uno screening genetico multiplo, diretto alla diagnosi delle gravi malattie genetiche più frequenti nella popolazione Italiana, quali:

- Fibrosi Cistica,
- Sindrome del Cromosoma X Fragile (ritardo mentale),
- Sordità Congenita,
- Distrofia Muscolare di Duchenne-Becker,
- e diverse altre malattie genetiche.

Queste malattie possono essere trasmesse da genitori portatori sani, totalmente inconsapevoli di esserlo. In tal modo la maggior parte delle persone pensa di non correre rischi, mentre purtroppo i difetti genetici sono molto più comuni di quanto si creda.

Si può inoltre effettuare la diagnosi prenatale per la presenza di una specifica malattia genetica familiare, segnalandolo al momento della prenotazione e ribadendolo in sede di consulenza.

Il tempo necessario per la diagnosi è di circa **5-7 giorni**, o **48 ore** nei casi di procedura d'urgenza.

Qualora fosse necessario o in caso di richiesta della paziente (familiarità o sospetto ecografico), il nostro Centro è attrezzato per eseguire altri test genetici per lo screening o la diagnosi di centinaia di malattie genetiche, utilizzando il DNA ottenuto dallo stesso campione fetale, senza la necessità di effettuare un nuovo prelievo.

In caso non si desiderasse effettuare tutti gli esami, ma solo uno o più di questi, la paziente può comunicare la sua scelta al ginecologo che eseguirà l'ecografia preliminare all'amniocentesi o villocentesi (il costo verrà computato in relazione agli esami scelti).

DIAGNOSI PRENATALE MOLECOLARE INFETTIVOLOGICA

In caso di necessità diagnostica, l'analisi del cariotipo fetale può essere integrata dalla **diagnostica prenatale Molecolare infettivologica**, che consiste nell'effettuare la ricerca con tecniche molecolari della presenza del genoma di agenti infettivi (es. **CMV, HSV, VZV, Rubeovirus, HIV, Toxoplasma gondii, Parvovirus**). Il vantaggio del ricorso alla tecnica molecolare (**Polimerase Chain Reaction - PCR**) risiede nel fatto che si ricerca direttamente il genoma, ossia la forma replicativa, dell'agente infettivo, superando i metodi tradizionali indiretti che esprimevano la produzione anticorpale fetale (IgM). Il tempo necessario per la diagnosi è di circa **2-3 giorni**.

Diagnosi Prenatale:

Screening Genetico Multiplo

FIBROSI CISTICA

La **fibrosi cistica (FC)** è una grave malattia ereditaria che colpisce alla nascita **1 bambino su 2500**. La FC rappresenta la malattia più diffusa nel nostro Paese e in Europa; in Italia vengono diagnosticati circa 200 nuovi casi di FC l'anno.

Nei pazienti affetti da FC, le secrezioni (cioè i liquidi biologici come il muco, il sudore, la saliva, lo sperma, i succhi gastrici) sono molto più dense del normale. I problemi più gravi sono a carico dei polmoni, dove il muco estremamente denso può causare problemi respiratori e infezioni. Sebbene il decorso e la prognosi della fibrosi cistica sono notevolmente migliorati negli ultimi decenni, allo stato attuale la guarigione non è possibile e la durata media della vita è comunque ancora ridotta rispetto a quella della popolazione generale.

La FC è una malattia che si trasmette con modalità autosomica recessiva, determinata da alterazioni del DNA, chiamate "**mutazioni**", che insorgono nel gene **CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator)**. Negli soggetti malati, entrambe le copie del gene sono alterate. Gli individui che possiedono una sola copia del gene alterato e una normale sono invece privi di ogni sintomo, ma sono portatori sani e avranno una probabilità del 25 % di avere figli affetti da FC. In Italia, la frequenza dei portatori della malattia è di circa 1 su 25, cioè sono circa 3 milioni le persone che, a loro insaputa, possono trasmettere il gene mutato ai loro figli.

Oggi, attraverso un test genetico (studio del DNA), è possibile eseguire sul liquido amniotico o sui villi coriali la ricerca delle mutazioni più frequenti che causano la FC (screening 34 o 70 o 300 mutazioni), che nel complesso permette di identificare circa l'85% dei casi di FC nella nostra popolazione. Se l'analisi molecolare dovesse riscontrare una mutazione, permane comunque un rischio residuo di circa 1 su 500 che il feto sia affetto da FC, per la presenza di un'altra mutazione più rara. In questi casi, i pazienti verranno contattati dal genetista del centro che, in sede di consulenza, illustrerà il significato di tale esito e suggerirà un test di **approfondimento** di 2° livello, che prevede l'**analisi di mutazione dell'intero gene**, con conseguente ricerca di tutte le mutazioni sinora conosciute.

X-FRAGILE (RITARDO MENTALE)

La **sindrome di Martin-Bell** o del cromosoma **X fragile** è la forma più comune di ritardo mentale dopo la sindrome di Down, in quanto interessa 1:4000 maschi e 1:6000 femmine. Una donna su 150-400 (a seconda della popolazione dei riferimenti) è portatrice sana di questa malattia. L' X-Fragile è una malattia ereditaria causata dall'alterazione di un gene (**FMR1**) localizzato nel cromosoma X, e colpisce molto più frequentemente i maschi rispetto alle femmine, dato che queste ultime possiedono 2 copie del cromosoma X. Lo sviluppo mentale delle persone affette da tale malattia è molto vario. Alcune mostrano capacità cognitive quasi normali, altre un lieve ritardo mentale, altre ancora un ritardo mentale più grave.

È noto che nella maggior parte dei casi di X-Fragile, l'alterazione responsabile della sindrome è l'**espansione**, attraverso le generazioni, di un tratto di DNA del gene **FMR1**, costituito da una sequenza ripetuta di tre basi nucleotidiche (CGG). Mentre nelle persone **normali** queste basi sono ripetute in un numero variabile da **5 a 58 volte**, nelle persone **malate** sono invece ripetute **più di 200 volte**. Questa espansione provoca il mancato funzionamento del gene FMR1, e si chiama **mutazione completa**.

Quasi tutti i maschi con la mutazione completa presentano i sintomi della malattia, mentre circa la metà delle femmine presentano ritardo mentale di grado variabile (da lieve a grave) e tratti fisici caratteristici.

Alcune persone possiedono un numero di **ripetizioni intermedie** all'interno del gene FMR1 (**da 59 a 200**) che non provocano alcun effetto. Questa alterazione intermedia è detta **pre-mutazione**, e gli individui che la possiedono sono portatori sani, perché nelle generazioni successive le ripetizioni possono aumentare causando la mutazione completa.

Ricorrendo al test genetico prenatale, su DNA estratto da amniociti o villi coriali, è oggi possibile definire il numero di triplette ripetute CGG e quindi accertare se nel feto sia avvenuta un'espansione a mutazione completa e, di conseguenza, se questo sia affetto da X-Fragile.



Diagnosi Prenatale: Screening Genetico Multiplo

DISTROFIA MUSCOLARE DI DUCHENNE/BECKER

La **distrofia muscolare di Duchenne (DMD)** è una malattia genetica degenerativa delle fibre muscolari, che provoca una progressiva perdita di forza muscolare, con riduzione delle abilità motorie.

La DMD è determinata da alterazioni di un gene localizzato nel cromosoma X, che contiene le informazioni per la produzione di una proteina chiamata **distrofina**. Le mutazioni, possono essere di vario tipo e comprendono sia delezioni (le più frequenti), sia sostituzioni nucleotidiche, ma tutte hanno come effetto quello di causare l'assenza totale della proteina. Altre mutazioni nello stesso gene, ma che non causano l'assenza totale della distrofina, sono responsabili di una forma molto più benigna di distrofia, la **Distrofia Muscolare di Becker (DMB)**.

Come tutte le malattie **legate al cromosoma X**, la DMD si manifesta solo nei maschi (che hanno un solo cromosoma X), mentre le femmine, a parte alcune eccezioni, sono portatrici sane (perché possiedono un altro cromosoma X, oltre a quello mutato, che può compensarne le funzioni). L'incidenza alla nascita dei maschi affetti è di **1 su 3000-3500**.

L'analisi molecolare prenatale del gene della **distrofina** permette di ricercare nel DNA fetale la presenza delle mutazioni (delezioni) più frequenti del gene, che nel loro complesso costituiscono causa di circa l'80% dei casi di DMD nella popolazione Italiana.

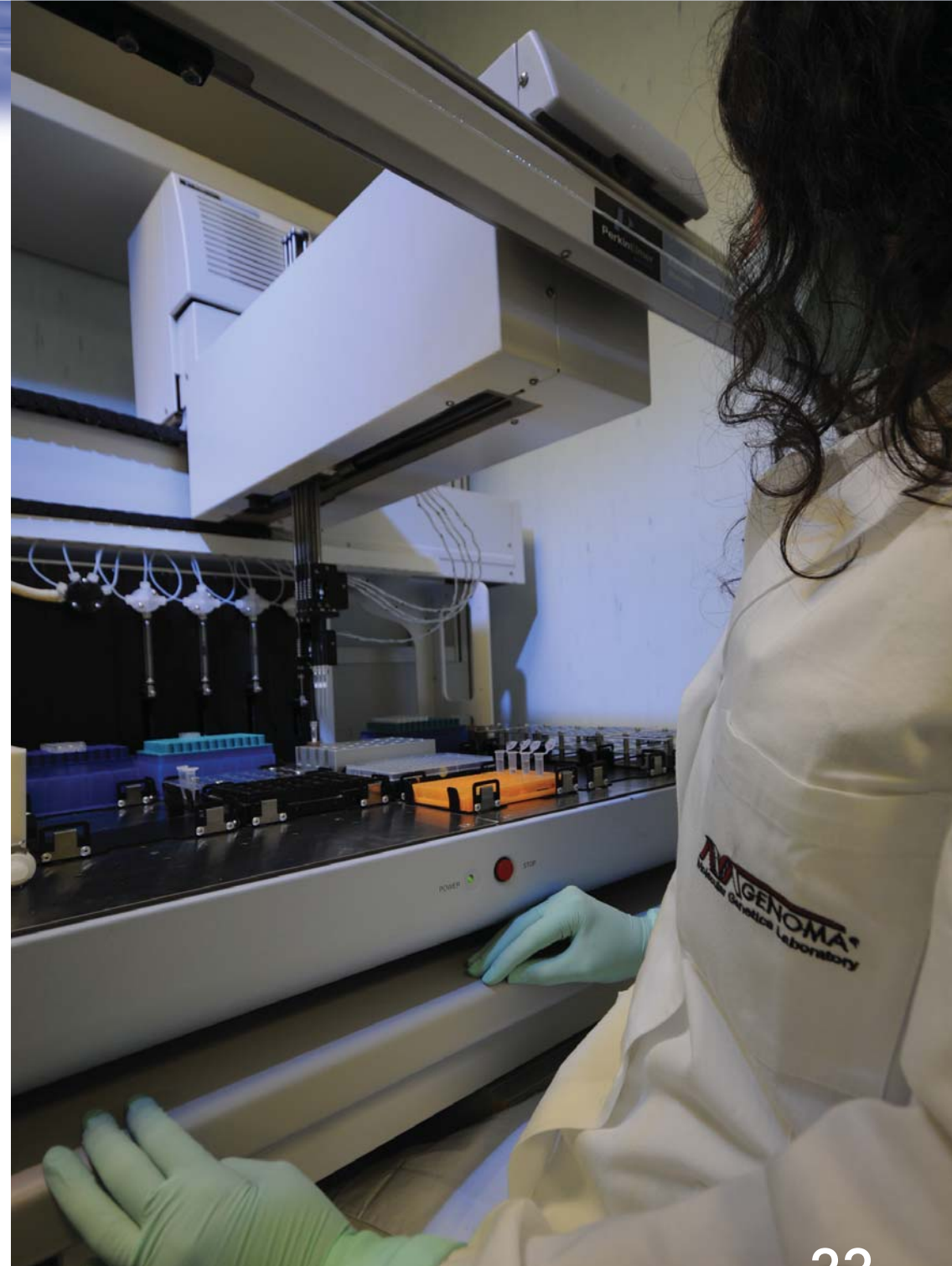
SORDITÀ CONGENITA

La **sordità congenita** è una malattia molto comune che colpisce, nella popolazione italiana, circa 6 milioni di persone. Ha una frequenza di circa 1/1000 nati e nel 60% dei casi si tratta di forme di sordità ereditaria.

Esistono molte forme di sordità ereditaria, con diverse modalità di trasmissione: **autosomica recessiva** in circa il **75%** dei casi; **autosomica dominante** in circa il **20%**; **legata al cromosoma X** in circa il **5%**; **mitocondriale** in meno dell'**1%**.

Il gene **connessina 26 (Cx26)**, indicato anche con la sigla **GJB2**, è il responsabile di circa l'**80%** dei casi di sordità autosomica recessiva (nell'area del bacino del Mediterraneo addirittura del 90% dei casi).

L'analisi molecolare prenatale del gene CX26 permette di ricercare nel DNA fetale la presenza delle mutazioni più frequenti che causano la malattia. Ad oggi sono state identificate ben 90 mutazioni del gene CX26. Se dall'esame dovesse risultare la presenza di una mutazione, i pazienti verranno contattati dal genetista del centro che, in sede di consulenza, illustrerà il significato di tale esito e suggerirà un test di approfondimento di 2° livello, che prevede l'**analisi di mutazione dell'intero gene**, con conseguente ricerca di tutte le mutazioni sinora descritte.



Elenco degli esami eseguibili in diagnosi prenatale

LA DIAGNOSI PRENATALE Tradizionale COMPRENDE:

- **cariotipo tradizionale** (con risultati entro circa 15 gg.);
- **risposta rapida** entro 24/48 ore mediante **QF-PCR** (cromosomi 13, 18, 21, X e Y);
- dosaggio **alfa-feto proteina - AFP** (solo in caso di Amniocentesi);

LA DIAGNOSI PRENATALE Molecolare COMPRENDE:

- **cariotipo molecolare** mediante tecnica Array-CGH (con risultati su eventuali aneuploidie a carico di **tutti** i cromosomi entro **2-3 giorni**)
- Screening di **100 patologie** cromosomiche da microdelezione / duplicazione e di oltre **150 geni**;
- dosaggio **alfa-feto proteina - AFP** (solo in caso di Amniocentesi);

La risposta rapida entro 24/48 ore mediante QF-PCR non è inclusa in quanto non necessaria. Infatti il cariotipo molecolare fornisce già in tempi rapidi (entro 2-3 giorni) i risultati di eventuali anomalie su tutti i cromosomi.

LA DIAGNOSI PRENATALE Genetica COMPRENDE:

- **cariotipo tradizionale** (con risultati entro circa 15 gg.);
- oppure, **cariotipo molecolare** mediante tecnica Array-CGH (con risultati su tutti i cromosomi entro 2-3 giorni);
- **risposta rapida** entro 24/48 ore mediante **QF-PCR** (cromosomi 13, 18, 21, X e Y) (solo con cariotipo tradizionale);
- screening di oltre **100 patologie** cromosomiche o genetiche submicroscopiche (solo con cariotipo molecolare);

- dosaggio **alfa-feto proteina** (solo amniocentesi)
- Ricerca con tecniche molecolari di **agenti infettivi**, con risposta entro 2-3 giorni (*se indicata*);
- Screening per **Fibrosi Cistica** (gene CFTR);
- Screening per **Ritardo Mentale** o Sindrome dell'**X fragile** (gene FRAXA);
- Screening per **Sordità congenita/ereditaria** (Gene GJB1 o CX26);
- Screening per **Distrofia Muscolare di Duchenne/Becker** (gene Distrofina);
- Altre malattie genetiche (*su richiesta*)
- Ricerca di specifiche mutazioni per qualsiasi malattia genetica (*su richiesta e previa approvazione del centro*)

LA DIAGNOSI PRENATALE MOLECOLARE infettivologica

Ricerca, con tecniche molecolari, della presenza del genoma di uno o più dei seguenti agenti infettivi:

- Citomegalovirus (CMV)
- *Herpes simplex* (HSV1/2)
- Varicella Zooster (VZV)
- Rubeovirus
- HIV
- *Toxoplasma gondii*
- Parvovirus (B19)

Perchè scegliere GENOMA

Il Gruppo GENOMA può vantare una tra le più vaste e approfondite esperienze a livello europeo nel settore delle analisi di citogenetica prenatale e post-natale e della biologia molecolare. Grazie alla integrazione delle competenze del **Consultorio di Genetica**, uno dei primi e più importanti laboratori di citogenetica tradizionale e molecolare del territorio nazionale, il Gruppo Genoma può contare su oltre **30 anni** di attività ed esperienza nel settore della diagnosi prenatale.

Questa esperienza ha permesso al Gruppo GENOMA di diventare il centro Italiano di riferimento per la diagnosi prenatale e post-natale. Presso il ns. Centro è possibile trovare soluzione a qualsiasi genere di problematica prenatale oggi conosciuta.

La Diagnosi Prenatale effettuata presso il Gruppo GENOMA offre i seguenti **vantaggi**:

- Oltre **30 anni** di esperienza in diagnosi prenatale
- Oltre **5000** diagnosi prenatali all'anno
- Un'esperienza di oltre **100.000** casi prenatali e un totale di **140.000** determinazioni di cariotipo
- Un totale di analisi (citogenetica + molecolare) eseguite che supera i **440.000**
- La più bassa percentuale di **insuccessi di coltura cellulare** (mancata crescita), inferiore allo **0.2% (<1:500)**
- **Risultato preliminare** in tempi brevissimi (**24-48h** per la tecnica **QF-PCR**)
- **Risultato definitivo** in tempi brevissimi (**2-3 giorni** per il **Cariotipo Molecolare Array-CGH**)
- Possibilità di ricercare routinariamente anche le malattie genetiche più comuni (**Fibrosi Cistica, X-Fragile, Sordità Ereditaria, Distrofia Muscolare Duchenne, Beta Talassemia, etc.**).
- **Consulenza genetica gratuita** associata a ciascun esame.
- Uno dei più avanzati laboratori di citogenetica e di biologia molecolare.



GENOMA è anche:

- **Abortività ricorrente**
Analisi genetiche e management delle coppie con anamnesi positiva per poliabortività
- **Cardiologia molecolare**
Valutazione dei fattori di rischio genetici predisponenti alle patologie cardiovascolari
- **Citogenetica e Citogenetica molecolare**
Diagnosi di alterazioni cromosomiche, numeriche o strutturali, e di riarrangiamenti submicroscopici (tecnologia array-CGH)
- **Diagnosi Genetica Preimpianto (PGD)**
Procedura innovativa che permette la diagnosi di malattie genetiche o cromosomiche negli ovociti o negli embrioni prima dell'impianto
- **Diagnosi Prenatale**
Test genetici, citogenetici e biochimici per le indagini sullo stato di salute del feto durante la gravidanza
- **Farmacogenetica**
Studio delle varianti genetiche che influenzano la risposta ai trattamenti farmacologici
- **Genetica Biochimica**
Analisi di specifici markers biochimici per valutare il rischio di alterazioni cromosomiche o malattie genetiche
- **Genetica Forense**
Analisi del DNA da tracce biologiche repertate sulla scena del crimine
- **Genetica Molecolare**
Per la diagnosi pre- e postnatale delle malattie genetiche
- **Genetica Preventiva**
Analisi di polimorfismi genetici e valutazione del loro ruolo in medicina preventiva
- **Genetica della riproduzione**
Test genetici di routine per coppie che accedono a tecniche di procreazione medicalmente assistita (PMA)
- **Infettivologia molecolare**
Test molecolari per l'identificazione, l'analisi quantitativa e la genotipizzazione degli agenti infettivi
- **Infertilità maschile e femminile**
Analisi genetiche e management delle coppie infertili
- **Nutrigenetica**
Valutazione di varianti genetiche che influenzano l'assunzione dei nutrienti da parte dell'organismo
- **Oncologia Molecolare**
Test genetici per la diagnosi precoce dei tumori e la valutazione genetica di predisposizione ai tumori ereditari
- **Test di paternità e consanguineità**
Sofisticati test genetici per risolvere casi di paternità, maternità e consanguineità controverse